

**Juliana Oliveira de Toledo Nóbrega**

**Propriedades imunomodulatórias da farmacoterapia  
antihipertensiva em mulheres idosas**

**Brasília**

**2016**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**JULIANA OLIVEIRA DE TOLEDO NÓBREGA**

**Propriedades imunomodulatórias da farmacoterapia  
antihipertensiva em mulheres idosas**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

**Orientador: Francisco de Assis Rocha  
Neves**

**Brasília  
2016**

**JULIANA OLIVEIRA DE TOLEDO NÓBREGA**

**Propriedades imunomodulatórias da farmacoterapia  
antihipertensiva em mulheres idosas**

**Tese apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde  
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde da Universidade de Brasília.**

**Aprovado em 28 de janeiro de 2016.**

**Presidente: Prof. Dr. Francisco de Assis Rocha Neves  
Universidade de Brasília – UnB**

**Prof. Dr. Luiz Augusto Casulari Roxo da Motta  
Universidade de Brasília – UnB**

**Prof. Dr Gustavo Adolfo Argañaraz  
Universidade de Brasília – UnB**

**Profa. Dra. Carla Nunes de Araujo  
Universidade de Brasília - UnB**

**Profa. Dra. Flora Aparecida Milton  
Universidade de Brasília - UnB**

*Dedico este trabalho aos familiares e amigos que compreenderam os muitos momentos de ausência para execução desta pesquisa, ao meu esposo, idealizador do projeto inicial com os idosos.*

*A Deus a quem buscamos em primeiro lugar, certos de que, todas as outras coisas nos são acrescentadas.*

## AGRADECIMENTOS

Ao **Otávio**, meu esposo, incentivador, idealizador que mesmo nos vários momentos de desentendimento, discussões, orientações, correções, sugestões, observações, sempre esteve ao meu lado, entre, gravidez, qualificação, momento de perda dos gêmeos, troca de linha de pesquisa, troca de orientador, prorrogação de prazo”, jamais perdeu o norte, meu obrigada.

A meus pais **Dirceu e Leusa Toledo** que não aceitaram e não permitiram minhas várias desistências em terminar este trabalho, sempre incentivando, motivando a estudar “um pouquinho mais”, me deram todas as condições de estudar e a jamais satisfazer em apenas ter coisas, mas acima de tudo ser alguém, muito obrigada.

Aos meus irmãos, **Rafael**, engenheiro de produção-PUC-GO, que mesmo após um trágico acidente (12/2007) que o deixou tetraplégico fez bacharel em direito (12/2013), está concluindo teologia (12/2015) e vai continuar estudando para a honra e glória do Senhor, e **Glauber**, engenheiro de computação muito útil nas horas de formação e configuração, exemplo de comprometimento com o trabalho e com a família, pai do Davi meu sobrinho amado, que obsessivamente me perguntava “a data” da defesa, obrigada.

A **Paty** Limeira, amiga querida que nos poucos momento de descontração sempre foi a parte leve desta longa jornada, obrigada amiga.

Ao amigo e professor Dr. **Clayton Franco Moraes**, parte essencial desta pesquisa, que brilhantemente cativou e atendeu em consultório do HUCB - antigo hospital da Universidade Católica de Brasília, cada uma destas idosas, o meu obrigada.

Ao professor **Dr. Francisco de Assis Rocha Neves**, por aceitar esta orientação já iniciada, sem hesitar ou questionar, meu eterno obrigada.

Aos vários colegas pesquisadores, farmacêuticos, médicos, biólogos e alunos que fizeram parte do levantamento dos dados para esta pesquisa, o trabalho de cada um foi imprescindível, muito obrigada, EQUIPE!

Aos órgãos de fomento que financiaram a pesquisa, obrigada.

A todos as idosas que pacientemente e voluntariamente concordaram em participar deste estudo, jamais serão esquecidas.

*“A vida sem ciência é uma espécie de morte”*

*(Sócrates)*

## RESUMO NA LÍNGUA PORTUGUESA

Propriedades imunomodulatórias da farmacoterapia antihipertensiva em mulheres idosas. 2015. 129f Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Brasília. 2016.

A angiotensina II, o princípio ativo do sistema renina-angiotensina (SRA), além de desempenhar um papel na regulação da pressão arterial (PA), mostra efeitos pró-inflamatórios importantes após estimulação do seu receptor de tipo 1 ( $AT_1R$ ). Além disso, a excitação do sistema simpático e seus produtos de catecolaminas também apresentam efeitos pró-inflamatórios atribuíveis às vias desencadeadas por receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos ( $\beta_1$ -AR). Assim, aumentado atividades simpática e do SRA, muitas vezes presente em hipertensão e diabetes, sendo determinantes importantes da disfunção endotelial e complicações relativas a contribuição de mediadores imunes.

O objetivo deste estudo consistiu em testar a hipótese de que a farmacoterapia anti-hipertensiva produz efeitos anti - inflamatórios na prática clínica, este estudo investigou os níveis séricos de mediadores pró-inflamatórios, especificamente IL-6 , TNF -  $\alpha$  e IFN -  $\gamma$ , em resposta ao uso de antihipertensivos para o controle da pressão arterial (PA ). O estudo prospectivo envolveu 110 mulheres de 60 anos ou mais, hipertensas, residentes na comunidade do Distrito Federal e entorno, com distúrbios metabólicos diferentes, entre 2005 a 2009. A terapia medicamentosa de redução da pressão arterial de curto prazo foi realizada de acordo com as diretrizes brasileiras atuais sobre a hipertensão e os níveis de citocinas basais foram medidos antes e depois da intervenção. Os resultados encontrados e intervenções realizadas representam as práticas de gestão de hipertensão atuais no Brasil e que correspondeu a uma redução significativa nos níveis da PA sistólica e diastólica em uma análise de grupo inteiro, mesmo quando usuárias e não usuárias das classes medicamentosas mais comuns foram consideradas separadamente. Considerando todos os pacientes, a IL-6 e TNF-  $\alpha$  mostrou uma diminuição significativa na concentração sérica ( $p < 0,01$ ) no final do estudo, enquanto que o nível médio de IFN -  $\gamma$  não foi significativamente diferente dos valores da linha de base. Em análises separadas, apenas os usuários de antagonistas do sistema renina - angiotensina

(SRA) e os usuários de diuréticos exibiram o mesmo tratamento significativo induzido por redução de IL – 6 e TNF -  $\alpha$  sérica, observada em todo o grupo . Os resultados demonstraram que um tratamento anti-hipertensivo clinicamente guiado é eficaz em reverter o baixo grau de um estado pró-inflamatório de citocinas séricas encontrada em mulheres pós-menopausa e sugere benefícios extra cardíacos de diuréticos e antagonistas do SRA.

Palavras-chave: sistema renina angiotensina; citocina; hipertensão; farmacoterapia; diretrizes; polimorfismo.

## RESUMO NA LÍNGUA INGLESA

Tailored antihypertensive drug therapy prescribed to older women attenuates circulating levels of IL-6 and TNF-alpha. 2015. 129f Thesis (Doctoral) - Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. 2015

Angiotensin II, the active principle of the renin–angiotensin system (RAS), in addition to playing a role in the regulation of blood pressure (BP), shows key proinflammatory effects upon stimulation of its type 1 receptor (AT<sub>1</sub>R).<sup>1,2</sup> Furthermore, sympathoexcitation and its catecholamine products also exhibit proinflammatory effects attributable to  $\beta$ 1-adrenoceptor ( $\beta$ 1-AR)-triggered pathways.<sup>3</sup> Thus, enhanced sympathetic and RAS activities, often present in hypertension and diabetes, are important determinants of endothelial dysfunction and complications concerning the contribution of immune mediators. **Objective:** To test the hypothesis that antihypertensive drug therapy produces anti-inflammatory effects in clinical practice, this study investigated circulating levels of selected proinflammatory mediators (IL-6, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ ) in response to multivariate drug directions for blood pressure (BP) control. **Methods:** Prospective study involving 110 hypertensive, community-dwelling older women with different metabolic disorders. A short-term BP-lowering drug therapy was conducted according to current Brazilian guidelines on hypertension, and basal cytokine levels were measured before and after intervention. **Results:** Interventions were found to represent current hypertension management practices in Brazil and corresponded to a significant reduction in systolic and diastolic BP levels in a whole-group analysis, as well as when users and non-users of the most common therapeutic classes were considered separately. Considering all patients, mean IL-6 and TNF- $\alpha$  levels showed a significant decrease in circulating concentration ( $p < 0.01$ ) at endpoint, whereas mean IFN- $\gamma$  level was not significantly different from baseline values. In separate analyses, only users of antagonists of the renin-angiotensin system (RAS) and users of diuretics exhibited the same significant treatment-induced reduction in serum IL-6 and TNF- $\alpha$  observed in the whole group. **Conclusion:** Our data demonstrates that a clinically guided antihypertensive treatment is effective in reversing the low-grade proinflammatory state of serum

cytokines found in postmenopausal women and support extracardiac benefits from diuretics and RAS antagonists.

**Keywords:** renin-angiotensin system; cytokine; hypertension; drug therapy; guidelines; polymorphism.

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Percentual de homens ( $\geq 18$  anos) que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial segundo as capitais dos estados brasileiros e o Distrito Federal. Vigitel, 2014.....9
- Figura 2.** Percentual de mulheres ( $\geq 18$  anos) que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial segundo as capitais dos estados brasileiros e o Distrito Federal. Vigitel, 2014.....9
- Figura 3.** Os efeitos da terapia anti-hipertensiva personalizada sobre os níveis circulantes de IL6 (A), TNF $\alpha$  (B) e INF $\gamma$  (C) em uma análise do grupo inteiro (n = 110).....42

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Percentual de indivíduos que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial no conjunto da população adulta ( $\geq 18$ anos) das capitais dos estados brasileiros e do Distrito Federal, por sexo, segundo a idade e os anos de escolaridade.....	8
<b>Tabela 2.</b> Dados clínicos e bioquímicos da amostra estudada.....	39
<b>Tabela 3.</b> Percentis 25, 50 (mediana) e 75, valores mínimos e máximos dos grupos Presença de redução da PAM e ausência de redução da PAM, comparados com o teste U de Mann-Whitney (P valores).....	41
<b>Tabela 4.</b> Efeitos da terapia medicamentosa anti-hipertensiva personalizada sobre os níveis de IL6, TNF $\alpha$ e IFN $\gamma$ circulantes, comparando usuários e não-usuários das classes anti-hipertensivas mais comuns.....	44

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ALP- fosfatase alcalina

ALT - alanina aminotransaminase

AST- aspartato aminotransferase

AT<sub>1</sub>R – Receptor AT<sub>1</sub> da angiotensina

AT<sub>1</sub>R-receptor do tipo 1 para angiotensina II

ACC- Antagonista de canais de Cálcio

BB-Betabloqueadores

BRA II - Bloqueadores dos receptores AT<sub>1</sub> da angiotensina II

DM2-diabetes mellitus tipo 2

HAS-hipertensão arterial sistêmica

HDL-colesterol de alta densidade

IL1- interleucina 1

IL2 - interleucina-2

IL6 - interleucina-6

IMC- índice de massa corporal

INF $\gamma$ -interferon- $\gamma$

LDL de baixa densidade

NF $\kappa$ B-fator nuclear kappa B

PA – Pressão Arterial

ProTeGer-Estudo Prognóstico e Terapêuticas em Geriatria

RCQ-cm de cintura / cm de quadril

SRA – Sistema Renina-Angiotensina

TNF $\alpha$ -fator de necrose tumoral-alfa

$\beta$ 1-AR- adrenoceptores  $\beta$ 1

$\beta$ 1-AR-seletivos- bloqueadores  $\beta$ 1-AR-seletivos

$\beta$ 2-AR – adrenoceptores  $\beta$ 2

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	18
1.1 EPIDEMIOLOGIA DA POPULAÇÃO IDOSA E SEU IMPACTO NA SAÚDE.....	18
1.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL.....	22
1.2.1 SRAA (sistema renina-angiotensina-aldosterona).....	27
1.2.2 Tratamento farmacológico da hipertensão e as principais classes medicamentosas.....	30
1.3 . INFLAMAÇÃO, ATEROSCLEROSE E ENVELHECIMENTO.....	35
<b>2. Objetivos</b> .....	40
2.1 OBJETIVO GERAL.....	40
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
<b>3. Métodos</b> .....	42
3.1 ESTUDO E CRITÉRIOS ÉTICOS.....	42
3.1.1 Projeto Promoção da Saúde do Idoso.....	42
3.1.2 Presente estudo.....	43
3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	43
3.3 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS.....	45
3.3.1 Diuréticos.....	45
3.3.2 Betabloqueadores (BB).....	46
3.3.3 Inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA).....	46
3.3.4 Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina (BRA II).....	47
3.3.5 Antagonista dos canais de cálcio (ACC).....	47
3.4 QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS.....	48
3.5 CÁLCULO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM).....	48
3.5.1 Análise estatística.....	49

3.6 TESTES BIOQUÍMICOS E EXAMES FÍSICOS.....	49
3.7 AVALIAÇÃO DIETÉTICA.....	50
3.8 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS.....	51
4. Resultados.....	54
4.1 PARTICIPANTES DO ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA..	54
4.2. AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DE REDUÇÃO NA VARIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM).....	56
4.3 NÍVEIS DE CITOCINAS COM A RESPOSTA ANTI-HIPERTENSIVA.....	58
4.4 NÍVEIS DE CITOCINAS CONFORME GRUPO FARMACOLÓGICO.....	58
5. Discussão.....	62
6. Conclusão .....	67
7. Referências Bibliográficas.....	71
8. Anexos.....	88
Anexo 1 Aprovação pelo Comitês de Ética em Pesquisa – UCB e FM/UnB..	89
Anexo 2 Ficha Clínica/Anamnese.....	93
Anexo 3 Ficha de Pressão Arterial.....	96
Anexo 4 Ficha de Avaliação Farmacológica.....	98
Anexo 5 Guia de Solicitação de Exames.....	101
Anexo 6 Artigos publicados.....	102
Artigo 1 Tailored antihypertensive drug therapy prescribed to older women attenuates circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$ .....	105
Artigo 2 Habitual dietary intake and mediators of the inflammaging process in Brazilian older women.....	100

Artigo 3 Pro-inflammatory cytokines correlate with classical risk factors for atherosclerosis in the admixed Brazilian older women.....	117
Artigo 4 Risk of glycemc disorder in elderly women adjusted by anthropometric parameters and cytokine genotype.....	121

# **1. *INTRODUÇÃO***

## 1. Introdução

### 1.1 EPIDEMIOLOGIA DA POPULAÇÃO IDOSA E SEU IMPACTO NA SAÚDE

A população mundial vem envelhecendo significativamente - processo que resulta em proporções crescentes de idosos na população total - desde meados do século XX. O processo de envelhecimento populacional iniciou-se precocemente nas regiões mais desenvolvidas no mundo, sendo observado mais tardiamente em países em desenvolvimento e tornando-se globalmente mais evidente na Conferência Internacional sobre População e Desenvolvimento, ocorrida em 1994, no Cairo, Egito (1). A discussão desta temática foi consolidada globalmente na Segunda Assembleia Mundial sobre o Envelhecimento, em Madri, Espanha, em 2002, na qual os estudos de projeções demográficas da época evidenciaram uma tendência inconfundível de envelhecimento populacional contínuo, o qual, indubitavelmente se consolidaria durante o século XXI (1 e 2).

O envelhecimento resulta da transição demográfica, um processo no qual há uma mudança de uma situação de mortalidade e natalidade elevadas, com populações predominantemente jovens, para uma situação com mortalidade e natalidade baixas, com aumento da proporção de idosos (3 e 4). Este processo vem ocorrendo globalmente, no entanto, sua extensão e velocidade variam (3, 4 e 5). Nos países mais desenvolvidos, a população envelheceu ao longo de muitas décadas, enquanto que nos países em desenvolvimento este fenômeno vem sendo observado há relativamente pouco tempo, assim como as taxas de mortalidade e as de fecundidade vêm reduzindo (3 e 4). Atualmente, as populações mais envelhecidas estão em países desenvolvidos, contudo a maioria das pessoas idosas reside em países em desenvolvimento (3 e 4). Dado que a taxa de crescimento da população idosa nos países em desenvolvimento é significativamente maior do que em países desenvolvidos, a população mais velha do mundo será cada vez mais concentrada nas regiões menos desenvolvidas (4 e 5).

Conforme relatório da ONU é importante que seja dada a devida atenção no que tange a aspectos macroeconômicos e fiscais representados pela transição demográfica, em especial no que se refere a políticas de saúde para esta população (6). Ressalta-se que o envelhecimento populacional também deve ser avaliado sob a

ótica de mudanças na composição populacional por gênero, uma vez que mulheres tendem a ter maior expectativa de vida que homens, constituindo, portanto, maioria substancial dentro da população idosa. As projeções atuais das Nações Unidas sugerem que a diferença de expectativa de vida entre os gêneros permanecerá relativamente constante nas próximas quatro décadas em escala mundial. No entanto, espera-se que, nas regiões menos desenvolvidas, os incrementos na expectativa de vida feminina sejam maiores do que os incrementos na expectativa de vida masculina. Estes dados são importantes para guiar os investimentos governamentais futuros em políticas de saúde pública, visando o gerenciamento de políticas macroeconômicas que acomodem essa nova realidade demográfica (5 e 6).

No final da década de 90, a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a utilizar o conceito de “envelhecimento ativo” buscando incluir, além dos cuidados com a saúde, outros fatores que afetam o envelhecimento. Pode ser compreendido como o processo de otimização das oportunidades de saúde, participação e segurança, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida à medida que as pessoas ficam mais velhas (2). Envolve políticas públicas que promovam modos de viver mais saudáveis e seguros em todas as etapas da vida, favorecendo a prática de atividades físicas no cotidiano e no lazer, a prevenção às situações de violência familiar e urbana, o acesso a alimentos saudáveis e à redução do consumo de tabaco, entre outros (2, 5 e 2). Tais medidas contribuirão para o alcance de um envelhecimento que signifique também um ganho substancial em qualidade de vida e saúde. Sua implementação envolve uma mudança de paradigma que deixa de ter o enfoque baseado em necessidades e que, normalmente, coloca as pessoas idosas como alvos passivos, e passa a ter uma abordagem que reconhece o direito dos idosos à igualdade de oportunidades e de tratamento em todos os aspectos da vida à medida que envelhecem (7 e 8). Essa abordagem apoia a responsabilidade dos mais velhos no exercício de sua participação nos processos políticos e em outros aspectos da vida em comunidade (2 e 7).

Aos 60 anos de idade, a deficiência e o falecimento resultam amplamente de perdas de audição, visão e movimentos relacionados à idade, bem como doenças não transmissíveis, incluindo doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, doenças respiratórias crônicas, câncer e demência (2). Há de se considerar que esses problemas não são observados apenas em países desenvolvidos. De fato, os

encargos associados a muitas dessas condições em pessoas idosas é muito maior em países de baixa e média renda (2, 4 e 5).

As mudanças que constituem e influenciam o envelhecimento são complexas (9). No nível biológico, o envelhecimento é associado ao acúmulo de uma grande variedade de danos moleculares e celulares. Com o tempo, esse dano leva a uma perda gradual nas reservas fisiológicas, um aumento do risco de contrair diversas doenças e um declínio geral na capacidade intrínseca do indivíduo. Em última instância, pode resultar no falecimento. Porém, essas mudanças não são lineares ou consistentes e são apenas vagamente associadas à idade de uma pessoa em anos (2 e 9).

A epidemiologia de doenças crônicas está fortemente ligada ao envelhecimento da população. Distúrbios com uma forte relação idade dependentes aumentarão em prevalência em paralelo com os números absolutos e relativos (em relação ao tamanho da população total) de pessoas idosas ( $\geq 60$  anos) (5 e 10). Em países economicamente mais desenvolvidos, o envelhecimento populacional persiste, assim como a fertilidade continua a cair e a expectativa de vida aumenta lentamente. Para muitos países em desenvolvimento, vem ocorrendo uma diminuição na taxa de mortalidade durante grande parte do século XX, a taxa de fertilidade também vem diminuindo e conseqüentemente se observa um envelhecimento rápido da população (10). A duplicação da proporção da população idosa de 65 anos ou mais de 7% para 14% ocorrida ao longo de 46 anos no Reino Unido, de 68 anos nos EUA, e 116 anos de França, será concluída em apenas 26 anos na China e em 21 anos em Brasil (11 e 12).

A tendência de envelhecimento da população brasileira cristalizou-se mais conforme pesquisa do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (13). Os idosos - pessoas com mais de 60 anos - somam 23,5 milhões dos brasileiros, mais que o dobro do registrado em 1991, quando a faixa etária contabilizava 10,7 milhões de pessoas (13). Na comparação entre 2009 (última pesquisa divulgada) e 2011, o grupo aumentou 7,6%, ou seja, mais 1,8 milhão de pessoas. Há dois anos, eram 21,7 milhões de pessoas (13). Estima-se que, em 2025, o Brasil terá a sexta população de idosos do mundo, com uma proporção de aproximadamente 14%, o que significa, em números absolutos, cerca de 32 milhões de idosos (14). Com esses dados, Com isso, surge uma grande preocupação com os idosos,

despertando o interesse de muitos estudiosos e das instâncias governamentais para a temática do envelhecimento (14 e 15).

Murray & Lopez (16) propuseram uma nova medida sintética denominada DALY (disability-adjusted life years – anos de vida perdidos ajustados por incapacidade), indicador do estudo de carga de doença que combina informações de mortalidade e morbidade, sendo originalmente calculado para uma lista de mais de 100 doenças e agravos. O DALY permite mensurar o impacto de cada doença ou agravo sobre o estado de saúde da população, constituindo-se em ferramenta fundamental para elaboração de políticas voltadas para a redução da carga de doença (16 e 17). O DALY (Disability-Adjusted Life Year- esperança de vida corrigida pela incapacidade) é uma métrica adotada pela Organização Mundial da Saúde para avaliar a carga total de doença de mortalidade e morbidade (16 e 17). Um DALY pode ser pensado como um ano perdido de vida "saudável". A soma desses DALYs em toda a população, ou a carga de doença, pode ser pensada como uma medida da diferença entre o estado de saúde atual e uma situação ideal de saúde, a qual toda a população vive até uma idade avançada, livre de doenças e incapacidades (17). DALYs para uma doença ou condição de saúde são calculados como a soma dos anos de vida perdidos (YLL) devido à mortalidade prematura na população e os anos perdidos devido à incapacidade (YLD) para as pessoas que vivem com uma condição de saúde ou suas consequências (17).

De acordo com as estimativas para 2010 do Global Burden of Disease (GBD) (4, 10), 23,1% da carga total de doença (574 milhões de 2,490 bilhões de DALYs) é atribuível a distúrbios em pessoas com 60 anos ou mais, 49,2% da carga total de doença em idosos é encontrada em países desenvolvidos, enquanto que 19,9% da carga total de doença é observada em países em desenvolvimento (10 e 18)

Os principais contribuintes para carga de doença em pessoas idosas são doenças cardiovasculares, neoplasias malignas, doenças respiratórias crônicas, doenças músculo-esqueléticas, distúrbios neurológicos e mentais, doenças infecciosas e parasitárias, lesões não intencionais, diabetes mellitus, doenças no trato digestório e infecções respiratórias (10 e 18). A ordem de classificação não varia muito entre estes países, contudo as doenças infecciosas e parasitárias têm mais proeminente contribuição na carga de doenças em países em

desenvolvimento, enquanto que distúrbios mentais e neurológicos e doenças músculo-esqueléticas contribuem mais na carga de doenças em países mais desenvolvidos (10 e 18). A carga de doença por pessoa em idosos é maior os países em desenvolvimento (827 DALYs por 1000) que nos países desenvolvidos (590 DALYs por 1000), o que pode ser explicado pelo aumento da carga de doença cardiovascular, respiratória crônica e infecções em países em desenvolvimento (10). Para os idosos, as 15 doenças mais onerosas são a doença isquêmica do coração (77,7 milhões de DALYs ); acidente vascular encefálico (66,4 milhões); doença de obstrução pulmonar crônica (DPOC, 43,3 milhões); diabetes (22,6 milhões); dor lombar (19,1 milhão); câncer de traqueia, brônquios ou pulmonar (18,6 milhões); quedas (12,4 milhões); deficiência visual (10,4 milhões); demência (10,0 milhões); tuberculose (9,2 milhões); hipertensão (9,5 milhões); câncer de estômago (8,6 milhões); perda de audição (7,5 milhões); osteoartrite (7,5 milhões); e transtorno depressivo (7,5 milhões) (10).

A hipertensão arterial, condição prevalente em idosos (19) é uma das mais importantes causas modificáveis de morbi-mortalidade cardiovascular precoce na população adulta mundial, além de ser fator de risco independente para doenças cardiovasculares (20 e 21). Ettehad e colaboradores (22) publicaram recentemente uma metanálise avaliando ensaios clínicos randomizados e controlados publicados no MedLine entre janeiro de 1966 e julho de 2015 (613.815 participantes recrutados em 123 ensaios clínicos de grande escala). Estes autores concluíram que uma redução de 10 mmHg na pressão sistólica estava associada a reduções significativas nos riscos relativos para eventos cardiovasculares, acidentes vasculares encefálicos, doença coronariana e insuficiência cardíaca (22). Globalmente, estima-se que a hipertensão é responsável por 62% dos casos de acidentes vasculares encefálicos e 49% dos casos de doença cardíaca isquêmica (23).

## 1.2.HIPERTENSÃO ARTERIAL

Hipertensão, definida como pressão arterial (PA) acima de 140/90 mm Hg, é o fator de risco modificável mais prevalente para doença cardiovascular; em 2001, 7,6 milhões de mortes prematuras em todo o mundo, incluindo 54% dos acidentes vasculares cerebrais fatais e 47% das mortes por doença cardíaca isquêmica, foram

atribuídos à alta pressão arterial (24). Em 2000, 26,4% da população adulta do mundo tinha hipertensão e, em 2025, esse número deverá aumentar para 29,2%, o equivalente a 1,5 bilhões de pessoas. No primeiro quarto do século XXI, projeta-se que a prevalência mundial de hipertensão aumente 9% em homens e 13% em mulheres (25).

Além disso, é interessante observar que a prevalência de hipertensão aumenta acentuadamente com o avanço da idade (26 a 29). Em um relatório de 2005 do Framingham Heart Study, a prevalência de hipertensão foi de 27,3% em aqueles com idade < 60 anos, 63,0% naqueles com idade 60-79 anos e 74,0% nas pessoas com idade ≥ 80 anos (28). Dados do US National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) de 2003-2004 mostraram que a prevalência de hipertensão foi de 7,3%, 32,6% e 66,3% entre indivíduos com idades 18-39, 40-59 e ≥ 60 anos, respectivamente (29). Estas taxas de prevalência não diferiram significativamente daquelas observadas nesta mesma população em 1999, indicando que as políticas públicas de saúde nos Estados Unidos vêm conseguindo obter adequado controle da hipertensão (27 e 29).

No Brasil, o Ministério da Saúde monitora por inquérito telefônico a frequência e distribuição dos principais determinantes das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (30). Este monitoramento ocorre por meio do Vigitel (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico). Estes dados contribuem na formulação de políticas públicas que promovam a melhoria da qualidade de vida da população brasileira e subsidiam o monitoramento das metas propostas no Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas no Brasil (30). Foram avaliados de 2006 a 2014 os dados referentes as participantes de todas as capitais dos estados brasileiros e o Distrito Federal. A frequência de adultos que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial variou entre 15,2% em Palmas e 29,2% em Porto Alegre. No sexo masculino, as maiores frequências foram observadas em Maceió (27,8%), Recife (26,7%) e Rio Branco (25,6%) e as menores em São Luís (15,3%), Palmas e Belém (15,8%) e Boa Vista (17,1%). Entre mulheres, as maiores frequências foram observadas em Porto Alegre (32,2%), Rio de Janeiro (30,7%) e Vitória (29,9%) e as menores em Palmas (14,6%), São Luís (17,8%) e Manaus (18,1%) (figuras 2 e 3) (30).

A tabela 1 apresenta o percentual de indivíduos que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial no conjunto da população adulta ( $\geq 18$  anos) das capitais dos estados brasileiros e do Distrito Federal, por sexo, segundo a idade e os anos de escolaridade (30). Estes dados indicam que o percentual de indivíduos hipertensos aumento com o decorrer da idade, sendo que esta condição é mais prevalente em mulheres em quase todas as faixas etárias avaliadas (tabela 1). As figuras 2 e 3 indicam que no conjunto das 27 cidades, a frequência de diagnóstico médico prévio de hipertensão arterial foi de 24,8%, sendo maior em mulheres (26,8%) do que em homens (22,5%) (30). Tais indicadores demonstram a importância da avaliação da hipertensão em idosas, população com maior prevalência desta condição no Brasil.

Tabela 1. Percentual de indivíduos que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial no conjunto da população adulta ( $\geq 18$  anos) das capitais dos estados brasileiros e do Distrito Federal, por sexo, segundo a idade e os anos de escolaridade.

Variáveis	Sexo					
	Total		Masculino		Feminino	
	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%
<b>Idade (anos)</b>						
18 a 24	4,6	3,4 - 5,8	4,0	2,5 - 5,4	5,4	3,5 - 7,2
25 a 34	9,5	8,2 - 10,8	9,8	7,9 - 11,8	9,2	7,5 - 10,9
35 a 44	19,5	17,7 - 21,3	20,8	17,8 - 23,8	18,5	16,3 - 20,7
45 a 54	32,6	30,6 - 34,6	31,9	28,6 - 35,2	33,2	30,7 - 35,6
55 a 64	50,2	47,7 - 52,7	47,0	42,8 - 51,3	52,4	49,4 - 55,4
65 e mais	59,9	57,6 - 62,1	53,4	49,3 - 57,4	64,5	62,1 - 66,9
<b>Anos de escolaridade</b>						
0 a 8	38,1	36,5 - 39,7	31,7	29,2 - 34,3	43,6	41,6 - 45,7
9 a 11	19,3	18,2 - 20,4	17,8	16,1 - 19,6	20,6	19,1 - 22,1
12 e mais	14,6	13,4 - 15,7	16,5	14,5 - 18,4	13,0	11,6 - 14,4
<b>Total</b>	<b>24,8</b>	<b>24,0 - 25,6</b>	<b>22,5</b>	<b>21,3 - 23,8</b>	<b>26,8</b>	<b>25,7 - 27,8</b>

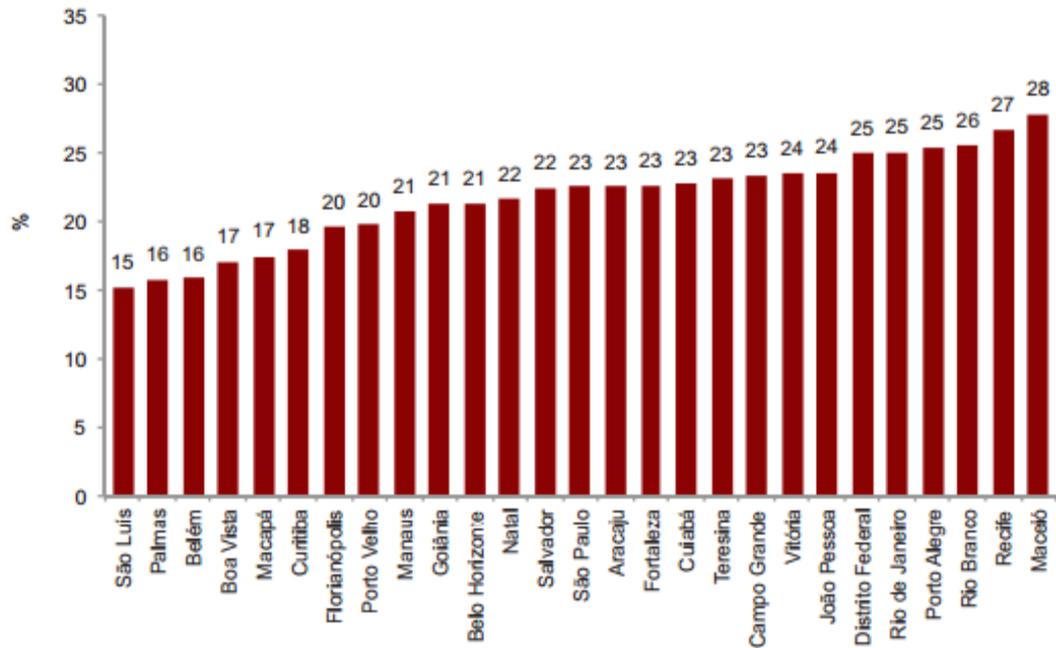
Fonte: SVS/MS.

\* Percentual ponderado para ajustar a distribuição sociodemográfica da amostra Vigitel à distribuição da população adulta da cidade projetada para o ano de 2014 (ver Capítulo 2 – “Aspectos Metodológicos”).

Vigitel: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico.

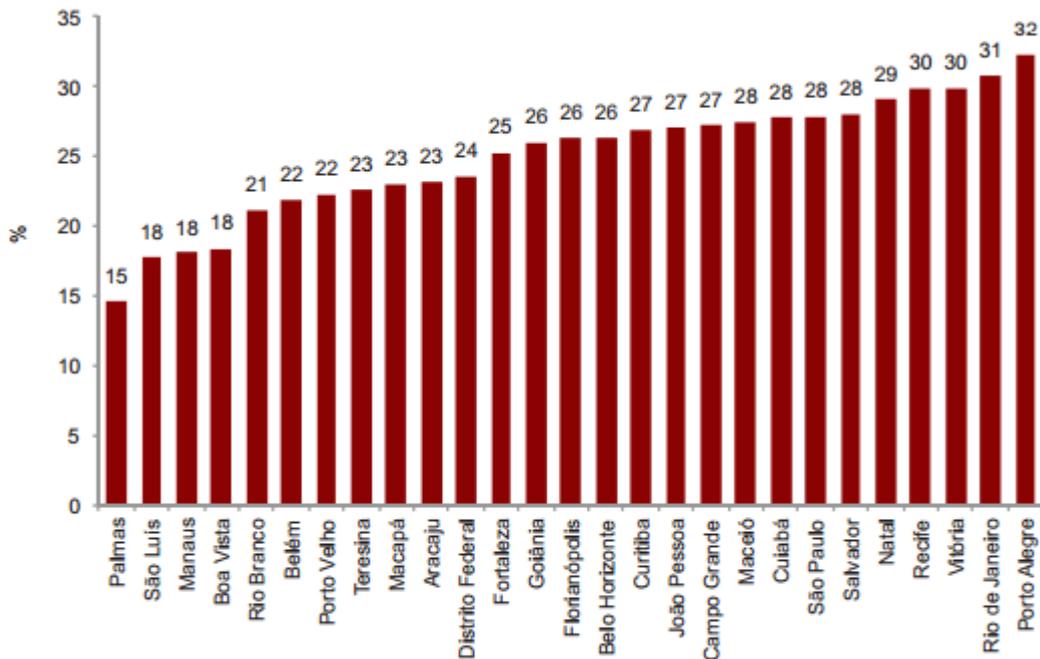
IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%.

Figura 1. Percentual de homens ( $\geq 18$  anos) que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial segundo as capitais dos estados brasileiros e o Distrito Federal. Vigitel, 2014.



Fonte: SVS/MS.

Figura 2. Percentual de mulheres ( $\geq 18$  anos) que referiram diagnóstico médico de hipertensão arterial segundo as capitais dos estados brasileiros e o Distrito Federal. Vigitel, 2014.



Fonte: SVS/MS.

Ainda no Brasil, análises de estudos cross-sectional entre 1980 e 2010 revelaram que a prevalência de hipertensão é aproximadamente 31% na população adulta (31) e 68% na população idosa (mais de 60 anos) (32), destacando novamente a importância de se estudar esta última população.

Indivíduos idosos, particularmente mulheres idosas, tendem a ter hipertensão mais grave e menores taxas de controle da pressão arterial em comparação com adultos jovens e de meia idade (28). Por exemplo, no Framingham Heart Study, apenas 23% das mulheres com idade acima de 80 anos (em comparação com 38% dos homens) tinham PA controlada <140/90 mmHg (29). Não se sabe se a redução relacionada à idade no controle da PA entre mulheres está relacionada com uma verdadeira resistência ao tratamento devido a fatores biológicos, a intensidade inadequada, ou aderência ao tratamento ou a escolha inadequada de medicamentos (29 e 33).

A disfunção endotelial, caracterizada por um desfavorável equilíbrio entre vasodilatadores, como nítrico óxido (NO), e vasoconstritores, tais como a endotelina, é outro importante contribuinte para a elevação da PA em idosos. A disfunção endotelial e a diminuição da disponibilidade de NO relacionada com a lesão mecânica e inflamatória das artérias envelhidas, têm sido associada ao aumento da rigidez arterial e ao desenvolvimento de ISH (hipertensão sistólica isolada) (34).

A hipertensão primária, essencial ou idiopática é definida como alta pressão arterial, na qual causas secundárias, tais como doenças renovasculares, falha renal, feocromocitoma, aldosteronismo ou outras causas secundárias ou formas monogênicas estejam ausentes (35). A modalidade primária é um distúrbio heterogêneo, com diferentes pacientes tendo diferentes fatores que levaram ao aumento na PA. Esta modalidade precisa ser separada em várias síndromes, uma vez que as causas do aumento da PA na maioria dos pacientes podem ser classificadas uma vez que a hipertensão primária seja reconhecida. Já a hipertensão secundária corresponde a aproximadamente 5% dos casos e suas causas são as acima mencionadas (35). Vários fatores aumentam a pressão sanguínea, incluindo obesidade, resistência à insulina, alto consumo de álcool, alto consumo de sal, envelhecimento, e talvez, estilo de vida sedentário, estresse, baixo consumo de

potássio e baixo consumo de cálcio. Muitos desses fatores são aditivos, tais como obesidade e consumo de álcool (36 e 37).

O uso concomitante de uma variedade de medicamentos prescritos e não prescritos é comum entre idosos. Em média, idosos consomem mais de seis diferentes medicações prescritas (38). Comorbidades como osteoartrite, doença renal crônica, dor crônica e depressão são prevalentes entre idosos e os medicamentos comumente utilizados nessas condições, tais como anti-inflamatórios não esteroides e corticosteróides, podem aumentar a PA (39). Além disso, medicamentos psicotrópicos comumente utilizados, tais como, clonazepam, diazepam, clozapina, risperidona, amitriptilina e venlafaxina, têm diversos efeitos sobre a PA (elevação ou redução) (40 a 43).

Doença crônica renal, definida como a diminuição da função renal (taxa de filtração glomerular estimada  $< 60 \text{ mL/min /1,73m}^2$ ) ou danos renais (albuminúria) que persiste por 3 meses ou mais, é comum em pessoas idosas; o risco de desenvolver esta condição é mais que dobrado em indivíduos com idade  $\geq 75$  anos, em comparação com indivíduos mais jovens (44 a 46). Entre as idades de 30 e 85 anos, estima-se que a massa renal, em especial a massa cortical, seja reduzida em 20-25% (45). Doença crônica renal pode ser uma causa ou uma consequência da hipertensão. A hipertensão pode se desenvolver secundária a alterações estruturais e funcionais do rim, incluindo glomerulares, vasculares, tubulointersticiais, e doença cística, ao passo que em longo prazo a exposição à alta PA pode levar a glomerulosclerose e falência da função renal (46 e 47).

Apesar da disponibilidade de vários tratamentos farmacológicos e os conhecidos efeitos preventivos da mudança no estilo de vida, a hipertensão continua a ser um distúrbio altamente prevalente em todo o mundo. Estima-se que a pressão arterial elevada resulte em aproximadamente metade da carga de todas as doenças cardiovasculares (48).

### 1.2.1 SRAA (sistema renina-angiotensina-aldosterona)

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) tem um papel importante na regulação da pressão sanguínea e sua inibição farmacológica é um aspecto chave para a redução do risco de eventos cardiovasculares. A cascata SRAA é

iniciada com a liberação de renina de células justaglomerulares renais para a circulação sanguínea. A secreção de renina é estimulada por muitos fatores, incluindo concentração de  $\text{Na}^+$  nos túbulos distais, estimulação simpática ou perfusão renal reduzida. Renina ativa no plasma cliva angiotensinogênio (produzido no fígado) produzindo angiotensina I, que é então convertida localmente para angiotensina II, por meio da catálise promovida pela enzima conversora de angiotensina (ECA) (49). A maioria dos efeitos da angiotensina II na SRAAs são exercidos pela sua ligação a receptores tipo 1 de angiotensina II (AT1R), levando à vasoconstrição arterial, efeitos glomerulares e tubulares – tais como aumentada reabsorção de  $\text{Na}^+$  ou modulação da taxa de filtração glomerular – e promoção da inflamação, hipertrofia e fibrose no coração, rins e artérias (49). Adicionalmente, junto a outros estímulos, tais como adrenocorticotropina, hormônio antidiurético, catecolaminas, endotelina, serotonina e níveis de  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{K}^+$ , a estimulação de AT1R leva à liberação de aldosterona (49). A aldosterona, por sua vez, promove a excreção de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  nos túbulos contorcidos distais que, quando em excesso, podem levar à fibrose ventricular esquerda, remodelamento arterial e glomeruloesclerose (50).

A disfunção endotelial é observada nos estágios iniciais do processo aterogênico e é iniciada pela lesão ao endotélio arterial. Tais lesões estão associadas a fatores de risco cardiovascular, como diabetes mellitus ou desbalanço no metabolismo de glicose, hipertensão, uso de tabaco, dislipidemia, obesidade ou síndrome metabólica (51 e 52). A hipertensão é um fator de risco estabelecido para o desenvolvimento de aterosclerose (35). Evidências sugerem que a hipertensão tanto promove, quanto acelera o processo aterosclerótico via mecanismos de inflamação ligados à ativação do estresse oxidativo pela angiotensina II, que subsequentemente leva à disfunção endotelial e ao desenvolvimento de lesões aterogênicas e placa (53).

Estudos em modelo de aterosclerose demonstraram que inibidores do sistema renina-angiotensina (SRA) ou antagonistas/bloqueadores reforçam as concentrações do imunomodulador óxido nítrico, diminuindo o desbalanço de as, inibindo a inflamação mediada por SRA, como representado pela ação destes fármacos em vários biomarcadores da inflamação (52 e 54). Adicionalmente, estas alterações bioquímicas estão também relacionadas ao um avanço no controle da PA

em pacientes com aterosclerose e alta pressão sanguínea. Estudos demonstraram que a administração de olmesartana medoximila suprime o avanço do processo aterosclerótico e significativamente melhora as disfunções cardiovasculares (52 e 54). Recentemente foi demonstrado que o inibidor de ECA enalapril melhorou a lesão vascular oxidativa por meio da supressão na geração de espécies reativas de oxigênio pela enzima NADPH oxidase, por meio da supressão de mediadores inflamatórios e pela regulação positiva do sistema de defesa antioxidante em camundongos deficientes de Apo-E (55 e 56).

Desta forma, agentes anti-hipertensivos que aumentam a concentração de NO, diminuem o estresse oxidativo ou reduzem a inflamação relacionada a SRAA mostram reduzir a progressão do processo aterogênico (57 e 58).

O estado inflamatório de baixo grau é reconhecido como tendo uma importante função fisiopatológica nas doenças cardiovasculares em especial na hipertensão (59 a 65).

O estado inflamatório de baixo grau mostrou ser um mecanismo que participa da progressão de doenças cardiovasculares e possui um papel importante na patogênese da hipertensão (59). Particularmente, a participação da resposta imune inata e adaptativa foi observada tanto em aterosclerose, quanto em hipertensão (60). Nos vasos sanguíneos, a inflamação pode reforçar a proliferação de células musculares lisas e ter um papel importante na remodelação vascular (66).

Em humanos, a maioria das evidências aponta para riscos cardiovasculares como um estado de inflamação de baixo grau relacionado a muitos marcadores inflamatórios (67). Em relação à hipertensão, um dos primeiros estudos cross sectional avaliou a possível relação entre valores de PA e marcadores plasmáticos de inflamação de baixo grau, investigando IL-6, como um estimulante primário da resposta de fase aguda e a molécula de adesão intercelular – 1 (sICAM-1), como mediadores da ligação e migração de leucócitos através da superfície endotelial, em uma coorte de homens aparentemente saudáveis (68). Esse estudo mostrou que o aumento na PA sistólica e PA média foram significativamente associados com os níveis de sICAM-1 e IL-6, sugerindo que o aumento da PA pode ser um estímulo para a inflamação e que este é um possível mecanismo em que a hipertensão é um fator promotor para a doença aterosclerótica (68). Outros estudos cross sectional,

incluindo um estudo multi-étnico de aterosclerose, indicaram uma associação entre proteína C-reativa (CRP), TNF- $\alpha$  e IL-6 e hipertensão primária (69 a 71).

O desenvolvimento da hipertensão envolve o processo inflamatório. O conhecimento de padrões moleculares e celulares na progressão da hipertensão melhorou consideravelmente nas últimas décadas, por avaliar o papel central da imunidade inata e adaptativa e citocinas pró-inflamatórias relacionadas a danos em órgãos-alvo (64 e 65). Este novo conceito relacionados ao papel do sistema imune irá eventualmente permitir a descoberta de novos alvos terapêuticos que podem melhorar os desfechos na hipertensão e doenças renais e cardiovasculares, representando uma abordagem terapêutica inovadora no tratamento destas condições.

Sabe-se que medicamentos comumente utilizados para o tratamento de doenças cardiovasculares, tais como estatinas e fármacos que afetam o SRAA, exercem efeitos pleiotrópicos além da redução de lipídios e da PA, reduzindo também a inflamação cardíaca e renal (72).

### 1.2.2 TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO E AS PRINCIPAIS CLASSES MEDICAMENTOSAS

Diretrizes internacionais de tratamento de hipertensão em população idosa diferem em relação a limiares e metas para terapia anti-hipertensiva em idosos devido à escassez de evidências científicas de alto nível obtido por meio de ensaios clínicos controlados e randomizados e devido a inconsistências na definição de “idosos” (73). Grupos de discussão e painéis de consenso entre os especialistas da área vêm utilizando dados de revisões sistemáticas e metanálises e análises de subgrupos de ensaios clínicos em que tanto participantes idosos quanto participantes mais jovens foram recrutados para recomendar limites e metas para controle da PA em idosos. As diretrizes do NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence) para manejo clínico da hipertensão primária em adultos (73) recomendam o tratamento com medicamentos anti-hipertensivos para os indivíduos

com idade < 80 anos com hipertensão estágio 1 (PA 140-159 / 90-99 mmHg) apenas na presença de danos a órgãos alvo, antecedentes de doença cardiovascular, doença renal crônica, diabetes ou um risco  $\geq 20\%$  de desenvolvimento de doença renal crônica em 10 anos. Estas diretrizes também recomendam tratamento medicamentoso para pessoas de qualquer idade com estágio 2 de hipertensão (PA >160/100mmHg) (73). Os guias da Fundação ACC/AHA propõem um limiar de 140/90 mmHg para os indivíduos com idade entre 65-79 anos e um limiar de pressão arterial sistólica de 150 mmHg para aqueles com idade >80 anos, independentemente de comorbidades e nível de risco cardiovascular (73). As diretrizes da NICE propõem PAs alvo de <140/90 mmHg para aqueles com idade <80 anos, e <150/90 mmHg para aqueles com idades compreendidas entre  $\geq 80$  anos, (29) enquanto que a Fundação ACC/AHA propõem um alvo de PA sistólica <140/90 mmHg para aqueles com idade entre 65-80 anos e uma meta de 140-145 mmHg com um limite máximo de 150 mmHg, se tolerado, como "razoável" para aqueles com idade >80 anos (38). Ressalta-se que a escassez de dados provenientes de ensaios clínicos para apoiar esta última recomendação foi, no entanto, reconhecida pela Fundação ACC/AHA (73).

### **Tratamento não farmacológico**

Tratamentos não farmacológicos, incluindo mudança no estilo de vida, têm se mostrado benéficos a todos os pacientes com hipertensão, incluindo os idosos, reduzindo a PA, modificando outros fatores de risco para doenças cardiovasculares e reduzindo a quantidade e as doses de anti-hipertensivos necessários para controle da PA (38 e 74). Algumas intervenções, como a redução da quantidade de sal na dieta, são mais eficazes para baixar a pressão arterial em idosos que em doentes adultos mais jovens com hipertensão (74).

### **Tratamento farmacológico**

Considerações especiais na escolha do tratamento anti-hipertensivo em pacientes idosos incluem características fisiológicas relacionadas à idade, que influenciam na absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos medicamentos,

(38), bem como a presença de comorbidades, tais como diabetes, insuficiência cardíaca com função ventricular esquerda preservada ou reduzida, fibrilação atrial e doença renal crônica, que são condições altamente prevalentes em idosos. Tais comorbidades levam à necessidade de vigilância para evitar efeitos adversos relacionados com o tratamento, tais como distúrbios eletrolíticos, deterioração da função renal, e excessiva redução da PA ortostática (38). Devido a estas preocupações, a recomendação geral para idosos é de se iniciar o tratamento com medicamentos anti-hipertensivos em doses baixas, com gradual aumento da titulação para a dose máxima tolerada de acordo com o controle da PA (38). Um segundo agente de uma classe diferente deve ser adicionado, caso a resposta da PA à medicação inicial seja inadequada depois de se atingir a dose completa (não necessariamente a dose máxima recomendada). Se nenhuma resposta terapêutica ocorrer, ou na presença de eventos adversos substanciais, uma medicação de outra classe deve ser substituída. A não aderência à medicação, interações medicamentosas, hipertensão secundária e pseudoresistência a medicamentos anti-hipertensivos (isto é, a aparente falta de controle da pressão arterial causada pela medição imprecisa da PA, inadequadas escolhas de drogas ou doses, não aderência à terapia prescrita ou o efeito do avental branco) precisam ser considerado antes de adicionar outro agente ao tratamento (38).

As principais classes de medicamentos utilizados no tratamento de hipertensão em população de idosos são (26):

- Bloqueadores do receptor de aldosterona - Ex: eplerenona, espironolactona.
- Bloqueadores do receptor da angiotensina II – Ex: candesartana, eprosartana, irbesartana, losartana, olmesartana, telmisartana, valsartana.
- Inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) – Ex: benazepril, captopril, enalapril, fosinopril, quinapril, trandolapril, lisinopril, perindopril e ramipril.
- Agonistas  $\alpha$ -adrenérgicos atuando centralmente – Ex: guanfacina.
- Antagonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos seletivos atuando periféricamente – Ex: doxazosina, prazosina, terazozina.

- Bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos não seletivos sem atividade simpatomimética intrínseca – Ex: nadolol e propranolol.
- Bloqueadores  $\beta_1$ -adrenérgicos seletivos sem atividade simpatomimética intrínseca – Ex: atenolol e metoprolol.
- Bloqueadores  $\beta_1$ -adrenérgicos seletivos com atividade simpatomimética intrínseca – Ex: acetobutolol.
- Agentes de atividade dual – Ex: carvedilol, labetalol e nebivolol.
- Antagonistas de cálcio – Ex: amlodipina, diltiazem, nifedipina, verapamil, felodipina e nicardipina.
- Diuréticos de alça – Ex: bumetanida, furosemida e torsemida.
- Diuréticos poupadores de potássio – Ex: amilorida, triamtereno.
- Diuréticos tiazídicos – Ex: clortalidona, hidroclorotiazida e indapamida.

As atuais recomendações da Sociedade Europeia de Hipertensão (ESH)/ Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC), (75 e 76), o sétimo Relatório da Comissão Nacional sobre a prevenção, a detecção, a avaliação e o tratamento de pressão arterial elevada (JNC7) (77) e a Fundação ACC/AHA (38) são consistentes com os ensaios clínicos atualmente disponíveis para esta indicação na população idosa. Estas diretrizes recomendam iniciar tratamento anti-hipertensivo tanto em idosos quanto em pacientes mais jovens com um bloqueador dos canais de cálcio (CCB), um diurético do tipo tiazídico, um inibidor da ECA (enzima conversora de angiotensina) ou ARB (bloqueador do receptor da angiotensina) ou um beta-bloqueador. Esta abordagem envolve o conceito de que os benefícios do tratamento anti-hipertensivo são em grande parte atribuíveis a redução da PA *per se* e que todas as classes de anti-hipertensivo mostraram que a redução efetiva da PA e a redução dos desfechos cardiovasculares são adequadas para a iniciação e a manutenção da terapia anti-hipertensiva (78 e 79). A escolha do agente para cada indivíduo dependerá da eficácia, tolerabilidade, presença de comorbidades específicas e custos.

Por outro lado, as diretrizes do NICE recomendam que a escolha do medicamento seja feita com base na idade do paciente, com bloqueadores de canal de cálcio ou para aqueles indivíduos intolerantes com diuréticos semelhantes à

tiazídicos, preferidos como terapia inicial para pacientes com idade > 55 anos, enquanto que inibidores da ECA (ou bloqueadores do receptor da angiotensina para aqueles que são intolerantes a inibidores da ECA) são os preferenciais para pacientes mais jovens (73). Estas diretrizes recomendam especificamente que diuréticos mais potentes semelhantes à tiazídicos e de ação mais prolongada (clortalidona 12.5-25.0 mg por dia ou indapamida de 2,5 mg ou de 1,5 mg com liberação modificada, diariamente) sejam utilizados preferencialmente aos diuréticos tiazídicos convencionais (tais como a hidroclorotiazida ou bendroflumetiazida), baseado em dados obtidos de ensaios clínicos randomizados, e que beta-bloqueadores não sejam utilizados como tratamento de primeira linha em pacientes idosos. A diretriz NICE, baseadas em evidências obtidas por meio de ensaios clínicos randomizados e controlados, relata que betabloqueadores tradicionais, particularmente atenolol, são ineficazes na redução da PA e na prevenção de desfechos cardiovasculares em idosos (89 e 90). Estas diretrizes recomendam que betabloqueadores sejam reservados como terapia de quinta linha para pacientes que não conseguem alcançar o controle da pressão arterial com uma combinação quádrupla de um inibidor de ECA ou bloqueador de receptor de angiotensina, um bloqueador de canal de cálcio, um diurético semelhante a tiazídicos e espironolactona (73). Novos beta-bloqueadores, tais como carvedilol e nebivolol, que promovem vasodilatação por melhorar a função endotelial podem fornecer benefícios não observados com a utilização dos beta-bloqueadores tradicionais, embora eles ainda não tenham sido testados em ensaios clínicos avaliando idosos com hipertensão.

Considerando que o estado inflamatório de baixo grau é normalmente observado em idosos e que dados da literatura sugerem aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias na hipertensão arterial (68 a 71), sugere-se que o tratamento farmacológico direcionado ao controle da inflamação poderia ser útil no tratamento da hipertensão arterial.

Mais da metade dos idosos (mais de 65 anos de idade) apresentam hipertensão (82) e a prevalência desta doença aumenta com a idade (83). Causas secundárias da hipertensão, tais como apneia do sono obstrutiva, doença renal obstrutiva e estenose arterial renal, que são todas associadas com inflamação, são altamente prevalentes na velhice (84). A inflamação crônica de baixo grau

normalmente ocorre com o envelhecimento e é denominada “inflammaging” (85). Este fenômeno é caracterizado por um desbalanço nos marcadores pró-inflamatórios e nos anti-inflamatórios. Os níveis dos marcadores pró-inflamatórios, tais como IL-6, CRP e TNF- $\alpha$  são elevados, enquanto que citocinas anti-inflamatorias, tais como IL-10 apresenta níveis reduzidos (86).

Estes dados mostram que a hipertensão é muito prevalente em idosos e que seu tratamento pode alterar o grau de inflamação nesta população. Desta forma, é importante estudar o efeito anti-inflamatório em idosos, uma vez que essa população apresenta componente inflamatório mais presente.

### 1.3 INFLAMAÇÃO, ATEROSCLEROSE E ENVELHECIMENTO.

Inflamação é um processo agudo ou crônico e uma resposta de defesa a uma lesão, a uma resposta autoimune, a isquemia tecidual ou a agentes infecciosos. A inflamação aguda é uma defesa primária contra lesão ou infecção e um fator de estímulo adequado no processo de cura. Este processo é geralmente benéfico, começa rapidamente e em seguida torna-se grave. A inflamação crônica que ocorre após a inflamação aguda não é favorável ao sistema, tendo papel relevante na fisiopatologia de doenças tais como diabetes mellitus, doença de Crohn, aterosclerose e câncer (87).

Uma ampla variedade de doenças, incluindo diabetes, câncer, infecção, aterosclerose, doenças cardiovasculares, Alzheimer e outras doenças degenerativas estão associados com o aumento no estresse oxidativo e nas condições inflamatórias. O processo de inflamação está envolvido no início e no desenvolvimento de várias doenças crônicas (87).

No processo de envelhecimento, o balanço normal entre o estresse oxidativo e o sistema tioxidante culmina em complicações cardiovasculares. No idoso estas condições causam o aparecimento de um fenômeno denominado “inflammaging”(49). Neste contexto, esta palavra é utilizada para mostrar o estado inflamatório em indivíduos idosos.

A inflamação crônica nos tecidos “inflammaging” é uma característica generalizada do envelhecimento e a maioria das doenças relacionadas ao

envelhecimento está associada com o processo inflamatório. O inflammaging é descrito como uma inflamação sistêmica, crônica, de baixo grau, em pessoas idosas e na ausência de infecção (88). É um grande fator de risco para mortalidade e morbidade em idosos.

A inflamação tem papel importante na fisiopatologia de uma ampla variedade de doenças crônicas, particularmente nas lesões e doenças infecciosas. A interação de várias células dos sistemas imune adaptativo e inato com mediadores inflamatórios modula a inflamação aguda e crônica causando várias doenças. Esta coordenação dos mecanismos inflamatórios leva à remodelação da matriz extracelular, estresse oxidativo, lesão tecidual, angiogênese e fibrose em vários tecidos. Estes mecanismos inflamatórios estão envolvidos na maioria das complicações cardiovasculares, incluindo doença arterial coronariana, isquemia, doença reumática, artrite reumatóide, ruptura de placa, trombose e aterosclerose (89). O domínio das respostas inflamatórias requer o desenvolvimento de novas abordagens para a prevenção e o tratamento de doenças crônicas associadas ao envelhecimento, como a aterosclerose (89).

Os mediadores da inflamação participam de mudanças ateromatosas e injúrias vasculares. A secreção de uma série de fatores inflamatórios pode contribuir para o aumento de risco cardiovascular. Os efeitos cardioprotetores de muitos fármacos são mediados pela melhoria da inflamação sistêmica (90). A supressão do alvo de várias cascatas pró-inflamatórias em adipócitos representa uma nova oportunidade terapêutica para o tratamento de doenças cardiovasculares.

A associação entre inflamação sistêmica e aumento do risco de doenças cardiovasculares tem estimulado investigadores a pesquisar a natureza precisa e as diferenças da inflamação tradicional e do inflammaging em relação às doenças cardiovasculares (91). A este respeito, embora os diferentes papéis em acelerar a aterogênese continuem indefinidos, no entanto, sabe-se que a resposta inflamatória nos idosos não é tão rápida quanto em indivíduos mais jovens. A inflamação pode ser benéfica facilitando a adaptação, *turnover* e reparação de muitos tecidos. No entanto, esta resposta inflamatória pode ser prejudicada durante o envelhecimento, o que aumenta a suscetibilidade a patógenos (91).

No período de envelhecimento, uma série de mudanças moleculares e celulares, incluindo eventos genéticos, epigenéticos e ambientais, ocorrem com o aumento da progressão de doenças arteriais.

Nos idosos, os tecidos estão em sua maioria em um estado cronicamente inflamado, sem sinal de infecção. A geração de radicais livres também aumenta e faz com que as pessoas idosas estejam suscetíveis a doenças cardiovasculares (92).

Os diversos marcadores associados com a inflamação podem ser divididos em categorias, como: 1) citocinas pró-inflamatórias; 2) citocinas antiinflamatórias; 3) adipocinas; 4) quimiocinas; 5) marcadores de inflamação derivados de hepatócitos; 6) marcadores de consequência da inflamação; e 7) enzimas (93).

*Inflammaging* está associado com o aumento dos níveis de IL -1 , IL- 6 , TNF e CRP, que são fatores de risco independentes para mortalidade e morbidade. A interferência no processo de envelhecimento ocorre com a sinalização anabólica, IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa aumenta a regulação negativa da insulina e de IGF-1, bem como a sinalização de eritropoietina e a síntese de proteínas. *Inflammaging* pode ser devido ao acúmulo de macromoléculas danificadas e de células, o que aumenta com a idade, devido ao aumento da produção e/ou eliminação inadequada (94). *Inflammaging* também pode ocorrer devido ao aumento de agentes nocivos produzidos por microorganismos do corpo humano, incluindo os que compõem a microbiota intestinal. No envelhecimento a microbiota intestinal pode reduzir capacidade do intestino de sequestrar estes micróbios e seus produtos, levando à inflamação crônica (94).

O aumento da inflamação no envelhecimento também pode ser devido ao elevado nível de resposta celular ao estresse e aos danos (senescência celular). As células senescentes provavelmente são como um combustível para doenças relacionadas com a idade, tais como doença cardiovascular, pois elas secretam várias citocinas pró-inflamatórias, modificando o microambiente do tecido e alterando a função das células vizinhas normais. Imunossenescência também contribui para *inflammaging* (95). No envelhecimento a imunidade adaptativa diminui e a imunidade inata aumenta, resultando em uma ligeira hiperatividade, o que pode conduzir a reações inflamatórias locais em idosos. A coagulação é considerada como uma parte do sistema de inflamação. O aumento da ativação do sistema de coagulação

também pode aumentar a inflamação. A maior incidência de trombose em idosos vem sendo atribuível a um estado de hipercoagulabilidade nesta população (95).

Os mais importantes medicamentos anti-inflamatórios incluem anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), glicocorticóides, e agentes modificadores de doença de doenças reumatóides (DMARDs) (96). AINEs e glicocorticóides são utilizados para aliviar os sintomas, enquanto DMARDs são usados com o objetivo de reduzir ou prevenir danos teciduais que são causadas por um ataque inflamatório. Infelizmente, todos estes medicamentos têm efeitos secundários inaceitáveis. Além disso, é necessário descobrir fármacos para utilização por longos períodos de tempo no tratamento de uma doença crônica.

A hipertensão é uma doença prevalente em idosos, sendo que a inflamação está presente nas duas condições. O objetivo deste trabalho foi investigar se o tratamento da hipertensão arterial pode modificar seus parâmetros inflamatórios.

## ***2.OBJETIVOS***

## 2. Objetivos

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se a farmacoterapia anti-hipertensiva, seguindo diretrizes atuais sobre o tratamento de hipertensão arterial sistêmica, produz efeitos anti-inflamatórios na prática clínica em uma amostra de mulheres idosas hipertensas residentes no Distrito Federal e acompanhadas pelo Estudo Prognóstico e Terapêuticas em Geriatria (ProTeGer) de Brasil.

#### 2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os níveis séricos dos mediadores pró-inflamatórios IL-6, TNF $\alpha$  e INF- $\gamma$  em resposta a multivariadas farmacoterapias para o controle da pressão arterial em idosas.
- Avaliar se há correlação dos níveis sérios de mediadores pró-inflamatórios com a resposta anti-hipertensiva.
- Avaliar se há correlação entre os tratamentos anti-hipertensivos prescritos e o estado de “inflammaging”.
- Avaliar se há correlação entre as classes de medicamentos anti-hipertensivos avaliadas e o estado de “inflammaging”.
- Quantificar os níveis séricos das citocinas mediadoras de inflamação sistêmica IL1a, IL1b, IL8, IL10 e IL12 e correlacionar com parâmetros clínicos/metabólicos relacionados a fatores clássicos de risco aterosclerótico em idosas.
- Analisar a associação da intolerância à glicose e do *diabetes mellitus* tipo 2 com as variações alélicas -174 G > C e -308 G > A de IL-6 e TNF- $\alpha$ , respectivamente, à luz de indicadores antropométricos e faixa etária em idosas.
- Avaliar se há correlação da ingestão habitual de macronutrientes por idosas com níveis circulantes dos mediadores inflamatórios IL1a, IL1b, IL6, IL8, IL10, IL12 e TNF- $\alpha$  por meio de imunoenaios específicos.

## ***3.MÉTODOS***

### **3. Métodos**

#### **3.1 ESTUDO E CRITÉRIOS ÉTICOS**

##### **3.1.1 Projeto Promoção da Saúde do Idoso**

Foi realizado um estudo experimental entre 2005 e 2009, utilizando dados obtidos a partir de pacientes ambulatoriais do sexo feminino, residentes no Distrito Federal, com idade superior a 60 anos e participantes inscritas em algum curso da Universidade Aberta à Terceira Idade (UnATI) UCB/DF, do qual o projeto deste estudo foi intitulado - Projeto Atenção à Saúde e à Qualidade de Vida dos Idosos (UCB), sob o processo CNPq n° 402699/2007-6 e Processo FAPDF n° 7-005/2007 – “Projeto Atenção à Saúde e à Qualidade de Vida dos Idosos”, financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Auxílio financeiro / Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - Auxílio financeiro, para a triagem e a intervenção visando prevenir distúrbios ateroscleróticos.

Através de meios de divulgação e de palestras- convites foram cadastrados 130 mulheres idosas, as quais foram conduzidas à consulta médica, nutricional e farmacêutica constituindo a amostra total de todas as etapas do estudo. O estudo foi dividido em duas fases: pré-intervenção e pós-intervenção. A pré-intervenção constituiu-se de duas consultas, sendo a primeira no ano de 2005 e a segunda em 2006/2007 (97).

Os objetivos da pré-intervenção foram definir aspectos sócio-econômicos das pacientes, investigar doenças auto-referidas, bem como tomar conhecimento do perfil dos medicamentos utilizados pela população em estudo. A pós-intervenção ocorreu em 2006/ 2007, sendo os objetivos desta fase a realização das intervenções interdisciplinares e a avaliação da sua efetividade. O tempo entre a segunda consulta da pré-intervenção e a pós-intervenção não ultrapassou um mês. Durante todas as consultas do estudo foi realizado um levantamento dos medicamentos utilizados e seu perfil de consumo (97). Observou-se que a classe de medicamentos mais utilizada durante as fases pré e pós-intervenção foi aquela relacionada ao sistema cardiovascular, que se encontra em consonância com as doenças auto-referidas pelas idosas. Cabe ressaltar que a hipertensão arterial, a dislipidemia e a

insuficiência cardíaca, que são distúrbios de impacto sobre o sistema cardiovascular, totalizaram a maior parte das doenças autorreferidas (97)

### 3.1.2 Presente estudo

Os protocolos utilizados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Brasília, sob o número CEP-UCB 082/2004, com posterior revalidação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, sob o número CEP-FM 061/2011, para novo uso das amostras biológicas e dos dados coletados a fim de investigar os mediadores inflamatórios. A anuência para a participação neste estudo foi voluntária e o termo de consentimento livre e esclarecido em formato escrito foi obtido de todos os participantes conforme os critérios estabelecidos pela Declaração de Helsinque, em alinhamento com os preceitos éticos internacionalmente aceitos para boas práticas clínicas.

## 3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Para inclusão neste estudo, cada participante foi submetida a uma avaliação inicial dos parâmetros bioquímicos, antropométricos e clínicos. Hipertensão foi definida de acordo com as IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, as quais não diferem dos padrões internacionalmente aceitos. Somente casos de hipertensão arterial sistêmica (HAS) diagnosticados em 2005, confirmados ao longo dos acompanhamentos clínicos realizados entre 2006 e 2007 e que não se beneficiaram de redução da PA com terapias anti-hipertensivas anteriores foram incluídos nesta análise. A pressão arterial foi aferida após um período de repouso de 10 minutos e para cada participante foram atribuídos valores da média de pelo menos duas avaliações obtidas por médicos. Para a presente investigação, conduzida em 2009, a avaliação inicial de PA foi realizada em ambos os membros superiores e quando encontrada alguma diferença, o braço com o maior valor de pressão foi usado para a obtenção de todas as futuras medidas de PA. Os pacientes com hipertensão arterial sistêmica confirmada foram considerados aptos para o estudo. O uso prévio ou atual

de medicação anti-hipertensiva no momento da admissão foi considerado para fins de diagnóstico de HAS (97).

Também foi avaliado o índice de massa corporal (IMC; kg/m<sup>2</sup>) e a razão circunferência cintura-quadril (RCQ; cm de cintura / cm de quadril). O peso corporal foi medido com resolução de 0,1 kg, com os participantes usando roupas leves, e altura de 0,1 cm, sem sapatos. A circunferência da cintura foi medida ao ponto médio entre a margem costal inferior e crista ilíaca, e a circunferência do quadril foi medida na largura máxima ao longo dos grandes trocanteres (97).

Os testes laboratoriais incluíram: avaliação sérica renal, sendo dosados ácidos úricos e creatinina; e testes hepáticos, sendo avaliadas as enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransaminase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP). O *clearance* de creatinina foi estimado por meio da creatinina sérica como descrito por Cockcroft e Gault (98). Os níveis séricos em jejum de glicose e lipídios [triglicerídeos, colesterol total e lipoproteína de colesterol de alta densidade (HDL)] também foram obtidos como marcadores metabólicos. Lipoproteína (LDL) de baixa densidade foi calculada segundo a fórmula de Friedewald e colaboradores (99). Todos os testes foram realizados no mesmo laboratório certificado pelo programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, com reagentes da Boehringer Mannheim<sup>®</sup> (Alemanha). Os níveis séricos de sódio e potássio foram determinados por fotometria de chama com sondas específicas ao íon (Celm<sup>®</sup>, em Barueri, SP, Brasil). A proteinúria foi determinada por um ensaio imunonefelométrico (Bering<sup>®</sup>, Marburg, Alemanha), usando uma coleta de urina de 24 horas (97).

Casos de hipertensão secundária ou maligna, bem como história clínica de arritmia, doença coronária ou acidente vascular cerebral nos últimos 12 meses foram excluídos desta análise. Outros critérios de exclusão foram os níveis séricos de marcadores hepáticos ou renais incompatíveis com a função normal destes órgãos, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) descontrolada e/ou sinais claros de inflamação, infecção ou doenças malignas. DM2 ativa foi caracterizada por glicemia de jejum  $\geq$  126 mg/dL assim como pelo uso de insulina ou antidiabéticos orais (97).

### 3.3 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

A intervenção farmacológica foi livremente escolhida pelo médico dentro dos limites das IV Diretrizes Brasileiras para Tratamento da Hipertensão Arterial Sistêmica, que recomenda que os pacientes recebam o tratamento de manutenção com a terapia individual ou combinada de medicamentos com base nas seguintes classes medicamentosas: diuréticos, betabloqueadores, IECAs, BRA II e ACC (97).

#### 3.3.1 Diuréticos

O mecanismo de ação anti-hipertensiva desta classe relaciona-se inicialmente com os seus efeitos diuréticos e natriuréticos, com diminuição do volume extracelular. São eficazes no tratamento da hipertensão arterial, tendo sido comprovada sua eficácia na redução da morbimortalidade cardiovasculares (100 e 101). Posteriormente, após cerca de quatro a seis semanas, o volume circulante praticamente se normaliza e há redução da resistência vascular periférica. Para uso como anti-hipertensivos, são preferidos os diuréticos tiazídicos e similares, em baixas doses. Os diuréticos de alça são reservados para situações de hipertensão associada à insuficiência renal com taxa de filtração glomerular abaixo de 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> e na insuficiência cardíaca com retenção de volume. Em pacientes com aumento do volume extracelular (insuficiências cardíaca e renal), o uso associado de diurético de alça e tiazídico podem ser benéficos tanto para o controle do edema quanto da pressão arterial, ressaltando-se o maior risco de eventos adversos. Os diuréticos poupadores de potássio apresentam pequena eficácia diurética, mas, quando associados aos tiazídicos e aos diuréticos de alça, são úteis na prevenção e no tratamento de hipocalcemia. Seu uso em pacientes com redução da função renal poderá acarretar hipercalemia.

#### 3.3.2 Betabloqueadores (BB)

A farmacodinâmica desta classe de anti-hipertensivo consiste na redução inicial do débito cardíaco, diminuição da secreção de renina, readaptação dos barorreceptores e diminuição das catecolaminas nas sinapses nervosas. BB de

geração mais recente (terceira geração), diferentemente dos betabloqueadores de primeira e segunda geração também proporcionam vasodilatação, que se explica no fato de que em grande parte do efeito de bloqueio se dá concomitante ao bloqueio do receptor alfa-1 adrenérgico (102 e 103). A redução da morbimortalidade cardiovasculares é bem documentada em grupos de pacientes com idade inferior a 60 anos (104 a 107). Recentes estudos de metanálises, (108 e 109) não têm assinalado redução de relevantes desfechos, principalmente acidente vascular encefálico, em pacientes com 60 anos ou mais, situação em que o uso dessa classe de medicamentos seria reservado para situações especiais, como disfunção sistólica, nos portadores de coronariopatia, arritmias cardíacas ou infarto do miocárdio prévio (108). Pesquisas recentes com carvedilol, metoprolol, bisoprolol e, recentemente, com nebivolol demonstrou que estes BB, são úteis na redução de morbimortalidade cardiovasculares de pacientes com insuficiência cardíaca, hipertensos ou não, independentemente da faixa etária (110 e 111). O propranolol se mostra útil, também, em pacientes com síndromes hipercinéticas, tremor essencial, cefaleia de origem vascular e naqueles com hipertensão portal.

### 3.3.3 Inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA)

Esta classe de anti-hipertensivos age essencialmente pela inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA), impedindo a transformação da angiotensina I em II no sangue e nos tecidos, mesmo que outros fatores possam estar envolvidos nesse mecanismo de ação.

São indicados para o tratamento da HAS, reduzindo a morbimortalidade cardiovasculares nos hipertensos (106, 112, 113, 114 e 115) pacientes com insuficiência cardíaca (116 e 117), com infarto agudo do miocárdio, em especial quando apresentam baixa fração de ejeção (118 e 119) de alto risco para doença aterosclerótica (119), sendo também úteis na prevenção secundária do acidente vascular encefálico (120). Os IECAs aprazam o declínio da função renal em pacientes com nefropatia diabética ou de outras etiologias, quando administrados em longo prazo (121 a 123).

### 3.3.4 Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina (BRA II)

Por meio do bloqueio específico de seus receptores AT1, os BRAs II antagonizam a ação da angiotensina II. Sendo eficazes no tratamento da hipertensão, especialmente em populações de alto risco cardiovascular ou com comorbidades proporcionando a redução da morbimortalidade cardiovascular. Estudos também evidenciam seu efeito benéfico em insuficiência cardíaca congestiva (104 e 105) e são úteis na prevenção do acidente vascular cerebral (103 e 106). Em paciente com diabetes melito tipo 2 com nefropatia estabelecida (108 e 110) e incipiente (118), são nefroprotetores. Metanálise recente aponta equivalência entre IECA e BRA II na redução de eventos coronarianos (107) e superioridade dos BRA II na proteção cerebrovascular (107), contrapondo-se a metanálises anteriores que indicavam redução de eventos coronarianos apenas com os inibidores da ECA (109 e 112). O tratamento com o uso de IECA, assim como com o uso de BRA II vem sendo associado a uma redução da incidência de novos casos de diabetes melito tipo 2 (111 e 119).

### 3.3.5 Antagonista dos canais de cálcio (ACC).

Nesta última classe a ação anti-hipertensiva provém da redução da resistência vascular periférica por redução da concentração de cálcio nas células musculares lisas vasculares. Apesar do mecanismo final comum, esse grupo é subdividido em três, com particularidades químicas e farmacológicas distintas, sendo elas: benzotiazepinas, diidropiridinas e fenilalquilaminas.

São anti-hipertensivos eficazes e reduzem a morbimortalidade cardiovasculares (112 e 115). Deve-se dar preferência aos bloqueadores dos canais de cálcio de longa duração de ação intrínseca ou por formulação manipulada e personalizada permitindo a liberação do ativo de forma controlada. Não são recomendados agentes de curta duração, pois estudo de desfecho ratificou a eficácia, segurança e tolerabilidade do uso dessa classe farmacológica no tratamento da hipertensão arterial de pacientes com doença coronariana (121).

Não foram encontradas idosas utilizando inibidores diretos da renina.

Cada farmacoterapia escolhida iniciou-se preferencialmente com a dosagem diária mínima definida, exceto quando um tratamento já se estava descrito como

ineficaz nos registros clínicos do paciente. Foi preconizado que não se aumentaria qualquer dosagem, não se substituiria o princípio ativo ou se mudaria a combinação da terapia medicamentosa antes de duas semanas de manutenção de um determinado regime posológico. Quando clinicamente apropriado, os diuréticos foram introduzidos como primeira-linha de tratamento, seguido pelos IECA ou BRAII II, aqui referidos como antagonistas do SRA.

Todos os tratamentos foram preconizados para serem administrados por via oral, para preservar a qualidade de vida do paciente, assim como para considerar suas condições socioeconômicas e de saúde. Instruções sobre como obter os medicamentos a partir do sistema de saúde pública foram constantemente fornecidos.

Para este estudo, na avaliação da farmacoterapia anti-hipertensiva, o desfecho para a intervenção clínica se deu quando qualquer redução da PA sistólica (PAS) foi observada entre a avaliação inicial e um mínimo de duas visitas consecutivas em qualquer esquema de dosagem.

### 3.4 QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS

Para a quantificação de mediadores inflamatórios, amostras de sangue total foram obtidas no período da manhã (entre 08h00min e 09h30min) em tubos de coleta livres de endotoxinas em dois momentos do estudo: na admissão do protocolo e no desfecho do tratamento. O soro foi separado do sangue total 1 hora após a coleta e armazenado em alíquotas a - 80 °C, até o dia de processamento, quando as amostras foram analisadas em lotes utilizando kits para ensaio imunoenzimático de captura específico a cada citocina (ELISA - *enzyme-linked immunosorbent assay*), comercializados pela empresa eBioscience (San Diego, CA, EUA). Cada amostra foi processada em duplicata. As doses mínimas detectáveis foram experimentalmente determinadas como 1,0, 1,6 e 2,0 pg/mL para IL6, TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$ , respectivamente. As medidas de todas as citocinas resultaram em coeficientes de variação intra-ensaio médios inferiores a 5% (97).

### 3.5 CÁLCULO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)

A pressão arterial média (PAM) foi calculada da seguinte forma:

$$PAM = \frac{PAS + (PAD \times 2)}{3}$$

Sendo que foi considerado o seguinte: presença de redução da PAM para aqueles cuja variação da PAM foi superior a 0%

### 3.5.1 Análise estatística

Para observar a diferença entre os grupos “Presença de redução da PAM” e “Ausência da redução da PAM” nas variáveis análises bioquímicas (lipídeos totais, glicemia em jejum, enzimas hepáticas, ácido úrico), IMC, Idade e variação das citocinas IL-6, TNFA e IFNG, primeiramente, os dados nos grupos, foram testados quanto à sua normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk. Diante disso, o teste estatístico utilizado foi o U de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% e o programa estatístico utilizado foi o SPSS versão 22.0

## 3.6. TESTES BIOQUÍMICOS E EXAMES FÍSICOS

Cada participante foi submetido à avaliação bioquímica, antropométrica e a exames físicos para admissão neste estudo. O índice de massa corporal (IMC; Peso (kg)/altura (m<sup>2</sup>)) foi determinado com as participantes utilizando roupas leves e descalças. A massa de gordura (kg) e a massa livre de gordura foram mensuradas utilizando a técnica de absorciometria de raios X de dupla energia (DXA; modelo Lunar DPX-IQ, software versão 4.7e, Lunar Radiation Corp, Madison, WI, USA) (122 e 123).

Testes bioquímicos incluíram a determinação do colesterol total sérico (CHL-t), colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL), triglicerídeos (TGL) e glicemia. Amostras de sangue venoso foram coletadas em tubos contendo EDTA após um período de jejum noturno de 12 h. Testes laboratoriais foram realizados seguindo a rotina de análises clínicas com reagentes da Boehringer Mannheim (Alemanha) e então processados em um dispositivo AutoHumalyzer (Human GMBH, Alemanha) (122 e 123). A equação de Friedewald foi utilizada para estimar o colesterol lipoproteína de baixa densidade (LDL-c). A categorização de lipídios foi realizada de acordo com o III NCEP ATP, de modo que cada participante foi identificada com

portadora (ou não) de dislipidemia mista (CHL - t  $\geq$  200 mg /dl, LDL -c  $\geq$  130 mg/dl e/ou TG  $\geq$  150 mg/dl) ou de HDL < 50 mg/dl. Diabetes tipo 2 foi definida de acordo com os valores de referência estabelecidos pela Associação Americana de Diabetes (glicemia de jejum  $\geq$  126 mg/dl) ou uso atual de hipoglicemiantes orais ou insulina (122 e 123).

Para a avaliação de fenótipos da intolerância à glicose e diabetes mellitus tipo 2 em mulheres idosas, foram avaliados o IMC e o índice de conicidade (ICo), sendo este último estimado como 9,17 vezes a razão entre a circunferência da cintura enquanto numerador (em m) e a raiz quadrada da razão entre massa corporal (em kg) e a estatura (em m) enquanto denominador (124). Para a referida análise, a avaliação bioquímica consistiu na dosagem sérica da glicemia após jejum de 12 horas, usando reagentes da empresa Roche® (EUA). Como critério para classificação do diabetes tipo 2, utilizou-se valor de referência ( $\geq$  126 mg/dL) preconizado pela Sociedade Americana de Diabetes (ADA) ou uso corrente de hipoglicemiante oral ou insulina. Estado de intolerância à glicose foi definido como glicemia  $\geq$  100 mg.dL<sup>-1</sup> ou presença de diabetes, conforme preconizado pela International Diabetes Federation (124).

### 3.7 AVALIAÇÃO DIETÉTICA

Avaliou-se o consumo habitual de macronutrientes por mulheres idosas. Para avaliar o consumo dietético, foi conduzido um registro dietético de três dias não consecutivos, incluindo um dia de fim de semana. Para o correto preenchimento dos formulários, cada paciente recebeu informações de nutricionistas treinados em relação à quantidade e ao tamanho das porções. Para melhorar a confiabilidade dos dados, os pacientes foram avaliados com uma versão validada em língua portuguesa do Exame do Estado Minimental. Sete a dez dias após sua distribuição, os formulários retornaram às participantes durante sua primeira visita subsequente, programada para verificar a acurácia dos registros e completar as informações perdidas (122).

A análise da composição de nutrientes foi realizada com o software Diet Pro, versão 4.0 (A.S. Sistemas, Brasil), ajustado para todos os bancos de dados disponíveis com uma tabela de composição química para a comida brasileira. As

participantes cujos registros indicaram o uso de suplementação contendo macronutrientes foram excluídas desta análise (122).

Após a entrada de dados dietéticos, ingestões absolutas (mg) de carboidratos, proteínas e lípidos foram calculadas individualmente. Ingestões absolutas foram convertidas em calorias relativas a partir destes macronutrientes em relação ao total de calorias da dieta (122).

### 3.8 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS

Na análise dos dados de farmacoterapia anti-hipertensiva, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a distribuição normal dos dados a partir de variáveis contínuas na amostra total ou em uma abordagem intra-grupo. Foi utilizado o teste *t* de Student para amostras pareadas para comparar os valores médios das variáveis com distribuição normal, ao passo que foi utilizado teste de Wilcoxon para comparação de valores médios de variáveis com distribuição não normal. Para fins não paramétricos, foi utilizado o teste qui-quadrado. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) para Windows (versão 17.0). Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo (97).

Na avaliação dos dados nutricionais, transformações logarítmicas foram aplicadas a todos os valores de citocinas e a associação entre concentrações de citocinas log-transformadas com os níveis de ingestão de macronutrientes foram avaliados utilizando o teste de correlação de Pearson. Este mesmo teste foi utilizado para a obtenção de coeficientes de correlação entre citocinas e outras variáveis contínuas (idade, IMC, massa magra e massa gorda, ingestão total de calorias) de potenciais efeitos de confundimento. A associação entre títulos circulantes de citocinas com a ingestão de macronutrientes específicos foi ainda analisada segregando participantes de acordo com tercís de ingestão habitual encontrada na amostra e utilizando a análise de variância para comparar as concentrações log – transformadas através de intervalos. Para as análises ANOVA, a significância foi definida como  $p \leq 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando o programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) para Windows (versão 17.0) (122 e 123).

Na avaliação de correlação entre mediadores inflamatórios e fatores de risco aterosclerótico, foi considerada a utilização de medicamentos para controle de colesterol, controle glicêmico e anti-hipertensivo pela população analisada. Para testar se a natureza de variáveis paramétricas intercorrelacionadas afetou as análises, um modelo de múltiplas e simultâneas correlações foi utilizado para testar a associação entre parâmetros clínicos/metabólicos e os níveis de citocinas, com todos os ajustes de uma só vez nos protocolos uni ou multivariados, o p-valor foi considerado significativo após um princípio da correção de Bonferroni para múltiplos testes com a mesma variável dependente (número de testes = 10;  $\alpha < 0,005$ ). Estas análises foram conduzidas utilizando o software SAS v.9.2 (123).

Para a avaliação de fenótipos da intolerância à glicose e o diabetes mellitus tipo 2 em mulheres idosas, a análise estatística consistiu em caracterizar os dados referentes à amostra por meio do cálculo da média e do desvio-padrão ou por frequência relativa. Calculou-se a prevalência geral de intolerância à glicose e o diabetes em cada estrato (idade  $\leq 65$  anos e  $> 65$  anos, IMC  $\leq 27$  kg/m<sup>2</sup> e  $> 27$  kg/m<sup>2</sup>, índice de conicidade  $\leq 1,25$  e  $> 1,25$ ), assim como a prevalência dos genótipos de IL-6 e de TNF- $\alpha$  em cada estrato. Utilizou-se o teste do qui-quadrado para identificação das diferenças de frequências entre estratos. Em seguida, foram determinadas as razões de prevalência (RP) relativas à intolerância à glicose e ao diabetes de forma dicotômica nos estratos eleitos para estudo (estrato inferior = 0 e estrato superior = 1). Adicionalmente, foram criadas variáveis *dummy* para comparação entre estratos assumindo o estrato inferior como grupo de referência (estrato inferior = 0) e os outros estratos de cada variável estudada para os polimorfismos da IL-6 e TNF, sendo IL-6 (GG = 0 e GC e CC = 1), TNF (GA e AA = 0 e GG = 1) e quando analisados os genes conjuntamente (GG para IL-6 e GA e AA para TNF = 0 e as demais combinações = 1). As diferenças foram observadas através do teste de Mantel-Hanzel. Utilizou-se o intervalo de confiança de 95%. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Stata, versão 7.0 (124).

## ***4.RESULTADOS***

## 4. Resultados

### 4.1 PARTICIPANTES DO ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Dados de um total de 110 pacientes admitidos no estudo foram incluídos nas análises aqui apresentadas. As características basais dos pacientes estão resumidas na Tabela 2 e são consistentes com o esperado para uma amostra de idosos hipertensos. O valor médio do IMC foi de 28,4 kg/m<sup>2</sup>, o que está dentro da faixa clinicamente esperada para pacientes com sobrepeso (27-30 kg/m<sup>2</sup>). Valores médios de triglicérides e de glicemia em jejum foram de 150,3 e 102,3 mg/dL, respectivamente, indicando uma elevada prevalência de síndrome metabólica no grupo investigado, conforme critérios de consenso mundial. Por outro lado, os níveis médios dos marcadores da função renal e hepática no soro estavam dentro dos respectivos intervalos de normalidade. A Tabela 2 mostra também um notável grau de homogeneidade na amostra em relação às características clínicas e laboratoriais, expresso por valores muito baixos de assimetria (*skewness* < 3,0) das variáveis contínuas.

Durante o período de terapia farmacológica, os sujeitos do estudo apresentaram uma contagem absoluta de 189 episódios de prescrição de medicamentos (cada princípio ativo considerado como um episódio de prescrição) ao longo de 430 consultas médicas realizadas (2,5 ± 1,6 consultas/paciente). As maiores frequências modais de consultas foram de 2 e 3 visitas de retorno, alcançando mais de 8 retornos em alguns casos. O número de episódios de prescrição para se alcançar uma redução da PA variou de 1 a 4 diferentes anti-hipertensivos/paciente ao dia (1,7 ± 0,9 episódios de prescrição/paciente). Enquanto 45,4% (n=50) dos usuários receberam prescrição para um único fármaco, 39,1% (n=43) receberam duas, enquanto 15,5% (n=17) receberam três ou quatro medicações simultaneamente. No presente estudo, diuréticos e antagonistas do SRA foram as classes terapêuticas mais comumente prescritas,

sendo utilizadas por 63,6% (n=70) e 55,5% (n=61) dos pacientes, respectivamente, seguidos dos bloqueadores dos canais de cálcio (24,5%; n=27) e dos bloqueadores beta-adrenérgicos (20%; n=22). Entre o início da intervenção e o seu desfecho, os valores médios de PA sistólica diminuíram na ordem de 22,1 mm Hg ( $p < 0,001$ ), enquanto que a PA diastólica (PAD) diminuiu em 8,8 mm Hg ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Dados clínicos e bioquímicos da amostra estudada

<b>Parâmetros</b>	<b>Resultados (N=110)</b>
Idade (anos)	68,1 ± 6,0
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,4 ± 4,5
Relação cintura quadril	0,87 ± 0,06
Glicemia em jejum (mg/dL)	102,3 ± 14,0
Colesterol total (mg/dL)	217,4 ± 40,6
Colesterol HDL (mg/dL)	55,0 ± 8,7
Colesterol de LDL (mg/dL)	132,2 ± 37,8
Triglicérides (mg/dL)	150,3 ± 64,6
AST (U/l)	24,0 ± 7,3
ALT (U/l)	19,1 ± 9,1
ALP (U/l)	176,4 ± 63,9
Ácido úrico (mg/dL)	3,71 ± 1,01
Clearance de creatinina (mL/min)	74,8 ± 21,3
Proteinúria (mg/24h)	144,1 ± 66,8
Sódio (mEq/L)	140,1 ± 2,1
Potássio sérico (mEq/L)	4,29 ± 0,42
PAS pré tratamento (mmHg)	163,0 ± 20,6
PAD pré tratamento (mmHg)	92,5 ± 12,2
PAS pós tratamento (mmHg)	140,9 ± 15,4
PAD pós tratamento (mmHg)	83,7 ± 8,5
DM2	12,7

Dados expressos em valores médios ± desvio padrão, exceto para DM2 (em percentagem). Notas: ALP = fosfatase alcalina; ALT = alanina aminotransaminase; AST = aspartato aminotransferase; IMC = índice de massa corporal; PAD = pressão arterial diastólica; DM2 = diabetes mellitus tipo 2; HDL lipoproteínas de alta densidade =; LDL = lipoproteína de baixa densidade; PAS = pressão arterial sistólica.

## AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DE REDUÇÃO NA VARIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)

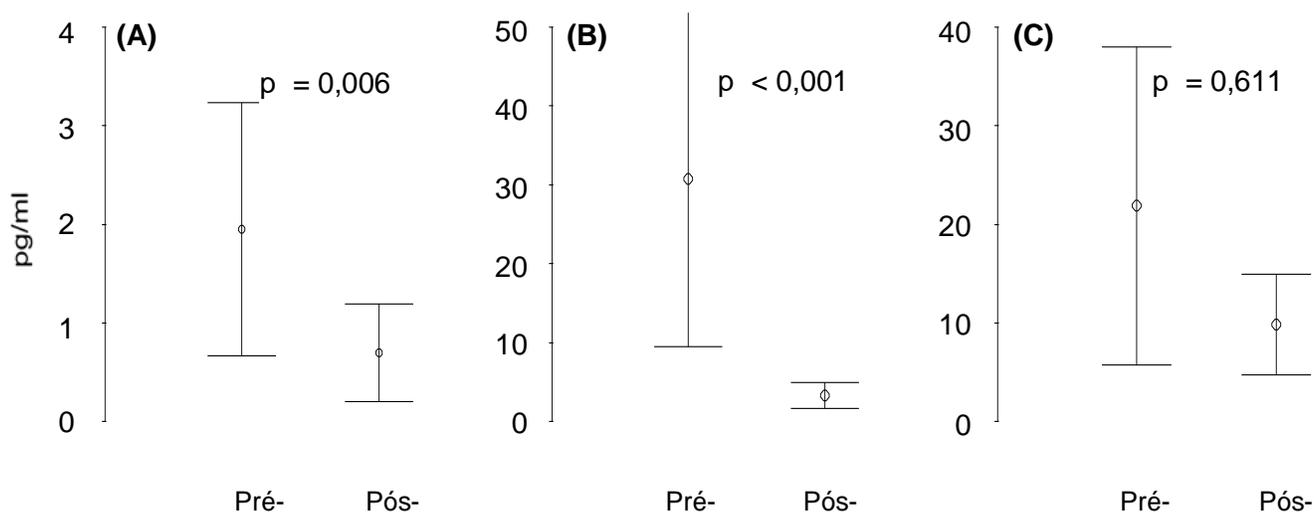
Com relação à redução da PAM, não houve diferença estatística entre os grupos presença de redução da PAM e ausência de redução da PAM, com relação a: variação das citocinas IL-6, TFNA e INFG, variáveis bioquímicas como lipidograma total, colesterol total, VLDL, HDL e LDL, TGO, TGP, ácido úrico, bem como para Idade e IMC ( $P > 0,05$ ; tabela 3).

Tabela 3- Percentis 25, 50 (mediana) e 75, valores mínimos e máximos dos grupos Presença de redução da PAM e ausência de redução da PAM, comparados com o teste U de Mann-Whitney (P valores).

	Presença de redução da PAM média												P		
	Com queda da PAM (N=97; 88,18%)						Sem queda da PAM (N=11,82%)								
	Percentil		Percentil		Contagem	Mínimo	Máximo	Percentil		Percentil		Contagem		Mínimo	Máximo
	25	Mediana	75					25	Mediana	75					
Delta IL-6	-1	0	0	97	-53	20		0	0	13	-2	0	0,927		
Delta TNFA	-11	0	0	97	-822	34	0	0	0	13	-84	23	0,225		
Delta IFNG	0	0	0	97	-443	199	0	0	0	13	-14	59	0,615		
Idade	63	67	72	97	53	84	67	70	73	13	57	82	0,321		
IMC	25,7	27,9	31,0	97	16,2	44,3	26,0	28,8	30,9	13	20,8	34,4	0,945		
Lipídeos totais	623,0	683,0	763,0	97	434,0	1038,0	626,0	675,0	798,0	13	418,0	886,0	0,806		
Colesterol total	195,0	217,0	245,0	97	118,0	350,0	180,0	227,0	236,0	13	136,0	259,0	0,591		
LDL	107,0	134,0	157,0	97	29,0	254,0	103,0	129,0	149,0	13	72,0	165,0	0,544		
VLDL	22,0	29,0	33,0	97	9,0	79,0	14,0	30,0	39,0	13	12,0	66,0	0,781		
HDL	49,0	56,0	61,0	97	35,0	82,0	52,0	53,0	56,0	13	39,0	67,0	0,650		
Glicemia em jejum	91,0	100,0	112,0	97	76,0	133,0	93,0	95,0	105,0	13	77,0	125,0	0,578		
TGO	20,0	23,0	27,0	97	10,0	49,0	18,0	22,0	27,0	13	12,0	29,0	0,399		
TGP	12,0	17,0	22,0	97	7,0	50,0	13,0	15,0	18,0	13	9,0	50,0	0,646		
Ácido úrico	2,9	3,6	4,4	97	2,0	6,1	2,7	2,8	3,2	13	2,1	6,7	0,075		
Sódio	139,0	140,0	141,0	97	133,0	144,0	139,0	141,0	141,0	13	135,8	143,0	0,728		
Potássio	4,0	4,3	4,5	97	3,3	5,5	4,1	4,4	4,6	13	3,9	4,9	0,257		

## 4.2 NÍVEIS DE CITOCINAS APÓS TRATAMENTO ANTI-HIPERTENSIVO

Os níveis basais de citocinas pré- e pós-tratamento encontram-se resumidos na Figura 3. No desfecho, níveis circulantes de IL-6 e TNF- $\alpha$  mostraram uma diminuição significativa de concentração sérica ( $p < 0,01$ ), considerando todos os pacientes. Os níveis de IFN $\gamma$  no desfecho não foram diferentes daqueles observados antes do tratamento.



**Figura 3.** Os efeitos da terapia anti-hipertensiva personalizada sobre os níveis circulantes de IL6 (A), TNF $\alpha$  (B) e IFN $\gamma$  (C) em uma análise do grupo inteiro (n = 110). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão. Valores de p obtidos pelo teste de Wilcoxon. Abreviaturas: IFN, interferon; IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral; Pré-, antes da intervenção; Pós-, após a intervenção.

## 4.3 NÍVEIS DE CITOCINAS CONFORME GRUPO FARMACOLÓGICO

Devido a uma possível associação entre a escolha medicamentosa e o padrão de resposta aos anti-hipertensivos e aos anti-inflamatórios, diferenças pressóricas entre usuários e não usuários das principais classes terapêuticas avaliadas foram investigadas (Tabela 4).

Esta análise revelou que todas as características de base dos indivíduos, tais como os parâmetros clínicos e bioquímicos gerais, permaneceram equiparáveis entre os diferentes braços de tratamento e que as principais ações de intervenção empregadas produziram alterações pressóricas muito semelhantes em termos de valores médios de PA. Além disso, esta abordagem revelou que apenas usuários de antagonistas do SRA e usuários de diuréticos exibiram redução de IL-6 e TNF- $\alpha$  circulantes em magnitudes importantes em resposta ao tratamento, a exemplo da redução observada quando toda a amostra foi analisada. Já o tratamento com bloqueadores de canais de cálcio ou com bloqueadores dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos não evidenciou tendência de redução semelhante. Diferenças nos níveis de IFN- $\gamma$  permaneceram não significativas apesar desta etapa analítica.

**Tabela 4.** Efeitos da terapia medicamentosa anti-hipertensiva personalizada sobre os níveis de IL6, TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$  circulantes, comparando usuários e não-usuários das classes anti-hipertensivas mais comuns.

Classes de medicamentos	Condição (n)	IL-6 (pg/mL)		TNF- $\alpha$ (pg/mL)		INF- $\gamma$ (pg/mL)	
		Baseline	desfecho	Baseline	desfecho	Baseline	desfecho
Antagonistas do SRA	usuários (61)	1,6 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,4	21,1 $\pm$ 9,9	4,3 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	16,5 $\pm$ 7,8	14,9 $\pm$ 4,3
	não-usuários (49)	2,4 $\pm$ 1,3	0,3 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	42,8 $\pm$ 20,5	2,1 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	28,5 $\pm$ 15,3	3,5 $\pm$ 1,7
Diuréticos	usuários (70)	2,6 $\pm$ 1,0	0,9 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	40,7 $\pm$ 16,6	4,2 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	22,8 $\pm$ 10,8	7,3 $\pm$ 3,2
	não-usuários (40)	0,7 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,2	13,4 $\pm$ 3,5	1,9 $\pm$ 0,9 <sup>c</sup>	20,2 $\pm$ 11,7	14,2 $\pm$ 4,1
Bloqueadores de canais de Ca <sup>2+</sup>	usuários (27)	1,5 $\pm$ 0,7	0,6 $\pm$ 0,4	36,4 $\pm$ 30,3	1,6 $\pm$ 1,3	1,2 $\pm$ 0,7	5,0 $\pm$ 2,7
	não-usuários (83)	2,1 $\pm$ 0,8	0,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	28,9 $\pm$ 10,2	3,9 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	28,6 $\pm$ 10,6	11,4 $\pm$ 3,2
Bloqueadores $\beta$ -adrenérgicos	usuários (22)	0,6 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,6	11,3 $\pm$ 4,2	6,0 $\pm$ 2,7	43,9 $\pm$ 27,7	16,2 $\pm$ 9,7
	não-usuários (88)	2,3 $\pm$ 0,8	0,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	35,6 $\pm$ 13,7	2,7 $\pm$ 0,8 <sup>c</sup>	16,4 $\pm$ 7,3	8,2 $\pm$ 2,1

Notas: Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão. Valores de P obtidos com o teste de Wilcoxon. Sendo: \*  $P < 0.05$  ; #  $P < 0.005$  ; †  $P < 0.001$  .

Abreviaturas: IFN , interferon ; IL , interleucina ; n, número ; SRA , sistema renina-angiotensina ; TNF, fator de necrose tumoral

## ***5.DISSCUSSÃO***

## 5. Discussão

Neste estudo, observa-se que o padrão de uso de medicamentos foi consistente com a prática médica brasileira, com uma tendência de reproduzir a atenção médica direcionada aos idosos hipertensos em tratamento no Sistema Único de Saúde (SUS)(125). Usando este protocolo, os resultados sugerem que o tratamento anti-hipertensivo de curto prazo clinicamente guiado parece ser eficaz em reverter o estado pró-inflamatório de baixo grau de citocinas séricas, observado em mulheres idosas com diferentes distúrbios metabólicos (126).

O resultado mais interessante obtido nesta análise foi a ausência de um efeito de redução dos níveis destas citocinas com o uso de bloqueadores de  $\beta$ -adrenérgicos, apesar da evidência experimental em favor de tal ação. Tomados em conjunto, os resultados obtidos pelo presente trabalho fornecem evidência de que as classes farmacêuticas de bloqueadores de canais de  $Ca^{2+}$  e de bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos, por si só, não produzem efeito anti-inflamatório. Entretanto os achados desta análise não excluem propriedades anti-inflamatórias destas classes de medicamentos por meios alheios aos que envolvam modulação negativa das citocinas circulantes, ou até mesmo por este mecanismo, mas com uma magnitude de efeito não tão intensa quanta aquela induzida por antagonistas do SRA e por diuréticos, nas condições em que este estudo foi realizado.

Os diuréticos, em relação aos quais não se esperava redução dos níveis de citocinas, produziram uma redução acentuada nos níveis séricos de IL-6 e TNF- $\alpha$ . Os nossos resultados provavelmente não derivam de uma sobreposição entre o uso de diuréticos e o uso de antagonistas do SRA, já que a prescrição concomitante de ambas as classes foi observada em apenas 28,8% (n=31) de todos os casos. Com base em testes de qui-quadrado, pode-se concluir que estas classes de medicamentos apresentaram uma distribuição desigual e excludente entre as mulheres idosas, já que 79,6 % das não-usuárias de antagonistas do SRA foram usuárias de diuréticos, enquanto que 79,6% das não usuárias de antagonistas de SRA foram usuárias de diuréticos e 75% das não usuárias de

diuréticos foram usuárias de antagonistas de SRA ( $\chi^2=9,72$  ;  $P = 0,002$ ). Este efeito contra-intuitivo dos diuréticos não é inteiramente surpreendente, uma vez que estes dados corroboram uma pequena parcela das evidências da literatura, nas quais um diurético de alça, assim como um diurético poupador de potássio atenuaram os níveis das mesmas citocinas pró-inflamatórias consideradas aqui (127 e 128). Embora o mecanismo anti-inflamatório exato dos diuréticos permaneça desconhecido, os dados obtidos neste trabalho dão suporte os benefícios extra-cardíacos, assim como todas as opções de tratamento medicamentoso utilizados neste estudo foram associadas com uma redução significativa tanto em PA sistólica quanto diastólica que, se eficiente por si só, proporcionaria uma redução de citocinas semelhante ao tratamento com todas as outras classes de drogas. Portanto, a redução nos níveis de IL-6 e TNF- $\alpha$  pode não estar relacionada unicamente ao alívio biomecânico de barorreceptores periféricos tal como descrito na literatura para níveis de IFN- $\gamma$  (129).

Um resultado intrigante obtido neste trabalho foi o efeito não significativo do tratamento com antagonistas de SRA nos níveis séricos de IL-6. Embora estudos epidemiológicos tenham relatado uma correlação inversa entre a IL-6 e envelhecimento bem sucedido (130 e 131), é provável que a IL-6 atue como um marcador substituto de TNF- $\alpha$ , pois a produção destas duas citocinas está intimamente relacionada (TNF- $\alpha$  induz produção de IL-6) (132), e também porque o TNF- $\alpha$  local não escapa prontamente para a corrente sanguínea e apenas gradualmente aumenta com a progressão do envelhecimento patológico (133 e 134). Além disso, embora a IL-6 seja frequentemente classificada como pró-inflamatória, ela também pode apresentar importantes propriedades anti-inflamatórias sensíveis ao seu contexto, incluindo a inibição da transcrição do gene do TNF- $\alpha$  (135) que são mais proeminentes na ausência de expressão de TNF- $\alpha$  (136).

Apesar de que os achados deste estudo apontam para uma redução nos níveis de citocinas pró-inflamatórias avaliadas, ao se avaliar a redução da pressão arterial média não houve diferença estatística entre os níveis destas citocinas pró-

inflamatórias antes e após a intervenção farmacológica, tanto no grupo com queda da PA, quanto no grupo sem queda na PA. Apesar de que há evidências na literatura (68 a 71) de que hipertensão primária está associada aos marcadores bioquímicos pró-inflamatórios proteína C reativa IL-6 e TNF- $\alpha$ , os dados do presente estudo mostraram que o tratamento anti-hipertensivo não interferiu no processo inflamatório por meio de vias em que as citocinas pró-inflamatórias IL-6, INF- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  participam. Desta forma, sugere-se que este mecanismo precisa ser mais bem estudado, com a avaliação de um maior espectro de citocinas pró-inflamatórias, que possam estar envolvidas com a hipertensão.

O presente estudo tem algumas limitações. Em primeiro lugar, o tempo (número e frequência de consultas) e a dosagem (quantidade e frequência do consumo de drogas) de qualquer intervenção medicamentosa podem ter um grande impacto sobre a determinação de respostas inflamatórias agudas, e as presentes análises não foram controladas para tais variáveis. Assim, essas interferências não podem ser descartadas. Em segundo lugar, o pequeno número de indivíduos, principalmente em análises que envolvam segregação, pode ter limitado a habilidade de determinar diferenças em níveis dos biomarcadores de desfechos clínicos. Em terceiro lugar, uma vez que o estudo foi realizado com uma série de pacientes do sexo feminino, não se sugere a extrapolação direta das conclusões deste trabalho para indivíduos do sexo masculino, devido a variações substanciais relacionadas ao gênero nos níveis de citocinas estimuladas (137 e 138). Por fim, devido ao estudo ter tido o objetivo de avaliar a resposta de curto prazo à farmacoterapia anti-hipertensiva, as intervenções foram realizadas baseadas no pressuposto de que a maioria dos tratamentos não alcançaria desfechos ótimos, o que pode ter limitado a extensão do efeito de redução das citocinas observado a presente análise. No entanto, acredita-se que este estudo reproduz o cenário atual das práticas de manejo da hipertensão arterial sistêmica em nosso país e no exterior, onde o controle sub-ótimo é muitas vezes o melhor resultado possível de se atingir.

Paula e colaboradores (122) mostraram que a distribuição de todos os títulos de interleucina em idosas foi não gaussiana, mas razoavelmente bem normalizadas (skewness <1) por uma transformação em log10. Estes autores mostraram que a alta ingestão de colesterol e de ácidos graxos saturados está correlacionada com o aumento dos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias, especialmente IL-6, em idosas hipertensas. Estes resultados sugerem que é uma dieta pró-aterogênica pode aumentar o risco de doenças crônicas relacionadas à idade, como por exemplo, a hipertensão, uma vez que pode haver uma contribuição subclínica para um estado de inflamação sistêmica.

Ferreira e colaboradores (124) sugerem que a presença do alelo A do SNP -308 G > A de TNF- $\alpha$  per se predispõe a ocorrência dos distúrbios glicêmicos de modo sensível ao contexto, tendo em vista que os fenótipos da intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 não se mostraram influenciar por quaisquer dos genótipos em estudo entre portadores de IMC compatível com obesidade.

Pires e colaboradores (123) mostraram que uma relativamente fraca associação, ainda significativa, entre níveis de IL-12 e importantes fatores de risco clássicos para doença cardiovascular, independentemente de fatores de confundimento comuns em estudos imunogerontológicos (idade, antropometria, uso de agentes terapêuticos) e influência devido à heterogeneidade genética (composição ancestral misturada). Estes resultados apontam que é importante que se continue estudando a correlação entre o estado inflamatório em pacientes idosas e o risco de desenvolvimento de doenças crônicas relacionadas à idade, tais como aterosclerose e hipertensão arterial.

## **6. CONCLUSÃO**

## 6. Conclusão

Este estudo revelou que a implementação da terapia medicamentosa anti-hipertensiva preconizada pelas diretrizes brasileiras atenua significativamente os níveis séricos dos mediadores pró-inflamatórios mais relevantes relacionados com o *inflammaging*, com efeitos indetectáveis sobre outros mediadores envolvidos em menor extensão neste fenômeno. Neste sentido, os dados obtidos com presente estudo suportam efeitos benéficos anti-inflamatórios extra-cardíacos da terapia medicamentosa anti-hipertensiva em idosos. Os nossos resultados também sugerem que o sistema renina-angiotensina provavelmente desempenhe um papel importante neste estado de hiperestimulação do sistema imunológico no envelhecimento, encorajando uma investigação mais aprofundada sobre esta via, assim como de possíveis moduladores do *inflammaging*, especialmente em uma população com alta prevalência de síndrome metabólica (139). O conjunto dos dados apresentados nesta tese mostra que, mesmo após normalização da pressão arterial, indivíduos hipertensos permanecem com um risco aumentado de sofrerem eventos coronarianos em comparação com os não hipertensos (140 e 141). Controle equivalente da PA por diferentes regimes terapêuticos resultou em distintas incidências de eventos cardiovasculares e de suas complicações (142 e 143). Evidências como essas têm reforçado o conceito de que a pressão arterial elevada é na verdade apenas mais um elemento da síndrome hipertensiva.

Por meio de mecanismos moleculares e hemodinâmicos, a hipertensão está fortemente associada com a atividade anti-inflamatória sistêmica. Este efeito tem um importante papel na aterogênese e pode estar ligado a um alto risco persistente de eventos cardiovasculares em indivíduos hipertensos com baixo controle efetivo da PA. Até o momento, pouco se sabe sobre o impacto das diferentes terapias anti-hipertensivas sobre a atividade inflamatória sistêmica. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi comprar em um modelo da “vida real” o efeito anti-inflamatório de diferentes tratamentos anti-hipertensivos. Os achados desta tese abrem portas para a discussão sobre o quão diferente os tratamentos

anti-hipertensivos podem ser, mesmo quando eles obtêm semelhantes controles da pressão arterial. Mas uma vez que a associação não necessariamente indica a causa, e para determinar se a associação observada aqui não constitui mero achado incidental, sugere-se que esta relação seja posteriormente avaliada utilizando outros desenhos experimentais, tais como intervenções guiadas por diretrizes internacionais de políticas públicas e/ou com amostras maiores, desde que os estratos de idade e sexo empregados sejam comparáveis e que a diversidade de opções medicamentosas seja considerada. Os efeitos de outros mediadores do *inflammaging* assim como de fatores associados (a exemplo daqueles envolvidos com a endocrinossenescência) também devem ser considerados nestes pacientes.

Paula e colaboradores (122) mostraram que a alta ingestão de colesterol total e de ácidos graxos parece estar relacionada com os níveis circulantes aumentados de IL-8. Outros mediadores imunes não mostraram correlação com as ingestões analisadas neste trabalho. Estes achados sugerem que um mecanismo pelo qual um padrão de ingestão pró-aterogênico pode aumentar o risco de aparecimento de doenças crônicas relacionadas com a idade por uma contribuição de inflamação sistêmica subclínica.

Ferreira e colaboradores (124) constataram que a intolerância à glicose e ao diabetes ocorreu em 27,6 e 16,8% de todos os casos investigados, respectivamente. Verificou-se também que a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes não diferiu entre os estratos criados conforme idade, índice de conicidade ou genótipos de IL-6 ou TNF- $\alpha$ . Todavia, diferiu entre estratos de IMC ( $p = 0,031$ ), tendo a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes sido significativamente maior no estrato superior a 27 kg/m<sup>2</sup>. Estes autores concluíram que a análise não ajustada para genótipos revelou que idosas com IMC elevado apresentaram risco 1,71 e 2,82 vezes maior para intolerância à glicose e o diabetes, respectivamente, enquanto faixa etária e índice de conicidade não apresentaram qualquer valor preditivo. Para além dessa associação, os resultados do presente artigo sugerem que a presença do alelo A do SNP -308 G > A de TNF-

$\alpha$  per se predispõe a ocorrência dos distúrbios glicêmicos de modo sensível ao contexto, tendo em vista que os fenótipos da intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 não se mostraram influenciar por quaisquer dos genótipos em estudo entre portadores de IMC compatível com obesidade.

Pires e colaboradores (123) mostraram que as concentrações circulantes de IL-8 e IL-12 aumentam com importantes fatores de risco vascular, como glicemia em jejum e VLDL-c, independentemente da idade, origem étnica, estrato de IMC ou uso de drogas terapêuticas. Elucidar os mecanismos pelos quais os mediadores imunes interagem diretamente ou não com metabólitos é a chave para a obtenção de um melhor entendimento sobre os efeitos endócrinos da resposta imune no organismo em envelhecimento e provavelmente proporcione oportunidades para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a aterosclerose.

## ***7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

## 7. Referências Bibliográficas

1. UNFPA. Programme of Action of the International Conference on Population and Development. Available: [http://www.unfpa.org/sites/default/files/pubpdf/programme\\_of\\_action\\_Web%20ENGLISH.pdf](http://www.unfpa.org/sites/default/files/pubpdf/programme_of_action_Web%20ENGLISH.pdf). 2014
2. Organização das Nações Unidas. *World Population Ageing* [Internet]. New York, USA: Department of Economic and Social Affairs, Population Division; Report No.: ST/ESA/SER.A/348. Available: <http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/ageing/WorldPopulationAgeing2013.pdf>. 2013.
3. Costa, EFA, Porto CC, Almeida, JC *et al.* Semiologia do Idoso. *In:* Porto, C.C. (ed). *Semiologia Médica*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. cap. 9, p.165-197, 2001
4. Organização Mundial da Saúde – *Relatório Mundial de Envelhecimento e Saúde – 2015*.
5. Conferência Regional sobre População e Desenvolvimento na América Latina e no Caribe. A nova era demográfica na América Latina e o Caribe: a hora da igualdade segundo o relógio populacional. 2014
6. Bloom DE, Chatterji S, Kowal P, Lloyd-Sherlock P, McKee P, Rechel B, Rosenberg L, Smith JP. Macroeconomic implications of population ageing and selected policy responses. *The Lancet*. Nov 2014; 385 (9968) 649–657.
7. Ministério da Saúde – Cadernos de Atenção Básica nº 19 – *Envelhecimento e Saúde da Pessoa idosa*. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília – DF. 2006.
8. Coleção Temas em Saúde Coletiva Volume 14 - Velhices: experiências e desafios nas políticas do envelhecimento ativo. 2013.

9. Kirkwood TB. A systematic look at an old problem. *Nature*. 7; Feb 2008 451(7179): 644–7.
10. Prince, MJ, Wu F, Guo F, Robledo LM, O'Donnell M, Sullivan R, Yusuf S. The burden of disease in older people and implications for health policy and practice. *The Lancet*. Nov 2014; 385 (9967) 549–562.
11. Kinsella K, Phillips DR. Global aging: The challenge of success. Washington DC: Population Reference Bureau. *Population Bulletin*. 2005. 60 (1).
12. Keller I.; Makipaa, A, Kalenscher T, Kalache, A. *Global Survey on Geriatrics in the Medical Curriculum*. Geneva, World Health Organization, 2002.
13. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílio. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2012. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad2012/default\\_sintese.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad2012/default_sintese.shtm)
14. Carvalho Filho ET, Papaléo Netto M. Geriatria: fundamentos, clínica e terapêutica. 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2006.
15. Ferreira, O. *et al.* O envelhecimento ativo sob o olhar de idosos funcionalmente independentes. *Rev Esc Enferm USP*. 2010. 44(4):1065-9.
16. Murray CJ, Lopez AD. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020. *Cambridge: Harvard University Press*. 1996.
17. Organização Mundial da Saúde. Health statistics and information systems. 2016. Disponível em: [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/metrics\\_daly/en/](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/metrics_daly/en/)
18. Organização Mundial da Saude. WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2011. Department of Health Statistics and Information Systems. 2013.

19. BRASIL. Ministério da Saúde. Vigitel Brasil 2006: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: MS, 2007. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel\\_2006.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_2006.pdf)>.
20. Lewington, S., Clarke, R, *et al.* for the Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2012. New York, v.360, p.1903-13.
21. Yusuf, S, Hawken, S.; *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004. New York, v.364, p.937-52.
22. Ettehad, Dena, *et al.* Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet* . 2015.
23. World Health Organization. The World Health Report 2002—Reducing Risks, Promoting Healthy Life. World Health Organization: Geneva, 2002
24. Lawes, CM, Vander Hoorn S, Rodgers, A, Internacional Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *The Lancet*. May 2008; 371, 1513–1518.
25. Kearney, PM. Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He, J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *The Lancet*. Jan 2005. 365, 217–223.
26. Pimenta, E, Oparil S. Management of hypertension in the elderly. *Nat. Rev. Cardiol*. Mar 2012b; 9, 286–296.
27. Roger, VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM,

- Heit JA, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. Jan 2012; 125, e2–e220.
- 28.** Ong, KL, Cheung BM, Man YB, Lau CP, Lam, KS. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension among United States adults 1999–2004. *Hypertension*. Jan 2007; 49, 69–75.
- 29.** Lloyd-Jones, DM, Evans, JC e Levy, D. Hypertension in adults across the age spectrum: current outcomes and control in the community. *JAMA*. Jul 2005; 294, 466–472.
- 30.** VIGITEL BRASIL 2014. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Ministério da Saúde. 2015.
- 31.** Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: a systematic review with meta-analysis. *PLoS One*. 2012; 7:e48255.
- 32.** Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Fuchs SC. Prevalence of hypertension among elderly persons in urban Brazil: a systematic review with metaanalysis. *Am J Hypertens*. 2013; 26:541–548.
- 33.** Pimenta, E. Hypertension in women. *Hypertens. Res*. Fev 2012a. 35, 148–152.
- 34.** Wallace, SM, Yasmin, McEniery CM, Mäki-Petäjä KM, Booth AD, Cockcroft JR, Wilkinson IB. Isolated systolic hypertension is characterized by increased aortic stiffness and endothelial dysfunction. *Hypertension*. Jul 2007; 228–233.

35. Carretero, OA, Oparil S. Essential Hypertension Part I: Definition and Etiology. *Circulation*. Jan 2000. 101:329-335.
36. INTERSALT Co-operative Research Group. Sodium, potassium, body mass, alcohol and blood pressure: the INTERSALT study. *J Hypertens*. 1988;6(suppl. 4):S584–S586.
37. Sever PS, Poulter NR. A hypothesis for the pathogenesis of essential hypertension: the initiating factors. *J Hypertens*. 1989;7(suppl1):S9–S12.
38. Aronow, W. S. *et al.* ACCF/AHA 2011 expert consensus document on hypertension in the elderly: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *Circulation*. May 2011. 123, 2434–2506.
39. Pimenta, E, Gaddam KK e Oparil S. Mechanisms and treatment of resistant hypertension. *J. Clin. Hypertens*. (Greenwich) Mar 2008; 10, 239–244.
40. Davies, SJ, Jackson PR, Ramsay LE, Ghahramani P. Drug intolerance due to nonspecific adverse effects related to psychiatric morbidity in hypertensive patients. *Arch. Int. Med*. Mar 2003. 163, 592–600.
41. Johannessen, L. Strudsholm U, Foldager L, Munk-Jørgensen P. Increased risk of hypertension in patients with bipolar disorder and patients with anxiety compared to background populations and patients with schizophrenia. *J. Affect. Disord*. Oct 2006. 95, 13–17.
42. Kim, MT. Han HR, Hill MN, Rose L, Roary M. Depression, substance use, adherence behaviors, and blood pressure in urban hypertensive black men. Aug 2003. *Ann. Behav. Med*. 26, 24–31.
43. Khurana, RN e Baudendistel, T. E. Hypertensive crisis associated with venlafaxine. *Am. J. Med*. Dec 2003. 115, 676–677.

44. Baggio, B, Budakovic A, Perissinotto E, Maggi S, Cantaro S, Enzi G, Grigoletto F; ILSA Working Group. Atherosclerotic risk factors and renal function in the elderly: the role of hyperfibrinogenemia and smoking. Results from the Italian Longitudinal Study on Ageing (ILSA). *Nephrol. Dial. Transplant.* Jan 2005. 20 (1), 114–123.
45. Beck, LH. The aging kidney. Defending a delicate balance of fluid and electrolytes. *Geriatric.* Apr 2000. 55, 26–28, 31–32.
46. Levey, AS e Coresh J. Chronic kidney disease. *The Lancet.* Jan 2012. 379, 165–180.
47. Ritz, E. Hypertension and kidney disease. *Clin. Nephrol.* Nov 2010. 74, S39–S43.
48. Organização Mundial da Saúde. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. *WHO Press.* Geneva, 2009.
49. Franceschi, C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, de Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflammaging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann. NY Acad. Sci.* 2009. 108, 244–254.
50. Unger, T. The role of the renin–angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.* Jan 2002; 89, 3A–9A.
51. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* Feb 2005; 23(2):233–246.
52. Mason RP. Optimal therapeutic strategy for treating patients with hypertension and atherosclerosis: focus on olmesartan medoxomil. *Vasc Health Risk Manag.* Jun 2011; 7: 405-416.

53. Li JJ, Chen JL. Inflammation may be a bridge connecting hypertension and atherosclerosis. *Med Hypotheses*. 2005; 64(5):925–929.
54. Pacurari M, Kafoury R, Tchounwou PB, Ndebele K. The Renin-Angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. *Int J Inflam*. Apr 2014; 2014: 689360.
55. Husain K, Suarez E, Isidro A, Ferder L. Effects of paricalcitol and enalapril on atherosclerotic injury in mouse aortas. *Am J Nephrol*. Aug 2010. 32(4): 296-304.
56. Suarez-Martinez E, Husain K, Ferder L. Adiponectin expression and the cardioprotective role of the vitamin D receptor activator paricalcitol and the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril in ApoE-deficient mice. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. Dec 2014; 8: 224-236.
57. Ferrario CM, Strawn WB. Targeting the RAAS for the treatment of atherosclerosis. *Drug Discov Today Ther Strateg*. 2005; 2(3):221–229.
58. Hammoud RA, Vaccari CS, Nagamia SH, Khan BV. Regulation of the renin-angiotensin system in coronary atherosclerosis: a review of the literature. *Vasc Health Risk Manag*. Dec 2007; 3 (6) :937–945.
59. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9(6):418–28 Review.
60. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension*. 2001; 38:581–7.
61. Leibowitz A, Schiffrin EL. Immune mechanisms in hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2011;13:465–72.
62. Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, Madhur MS, Marvar PJ, Thabet SR, Vinh A, Weyand CM. Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension*. 2011;57:132–40.

63. Harrison DG, Vinh A, Lob H, Madhur MS. Role of the adaptive immune system in hypertension. *Curr Opin Pharmacol*. 2010;10:203–7.
64. Schiffrin EL. The immune system role in hypertension. *Can J Cardiol*. 2013;29:543–8.
65. Schiffrin EL. Immune mechanisms in hypertension and vascular injury. *Clin Sci (Lond)*. 2014;126:267–74.
66. Viridis A, Schiffrin EL. Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12(2):181–7.
67. Taddei S, Caraccio N, Viridis A, et al. Low-grade systemic inflammation causes endothelial dysfunction in patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(12):5076–82.
68. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension*. 2001;38(3):399–403.
69. Lakoski SG, Cushman M, Palmas W, Blumenthal R, D'Agostino Jr RB, Herrington DM. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol* 2005;46(10):1869–74.
70. Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2005;19(2):149–54.
71. Viridis A, Ghiadoni L, Plantinga Y, Taddei S, Salvetti A. C-reactive protein and hypertension: is there a causal relationship? *Curr Pharm Des* 2007;13(16):1693–8.
72. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension*. 2001;38:581–7
73. Krause, T, Lovibond K, Caulfield M, McCormack T e Williams B. Guideline Development Group. Management of hypertension: summary of NICE guidance. *BMJ*. Aug 2011. 343, d4891.

74. Appel, L. J., Epeland MA., Easter L., Wilson AC., Folmar S, Lacy C.R. Effects of reduced sodium intake on hypertension control in older individuals: results from the Trial of Nonpharmacologic Interventions in the Elderly (TONE). *Arch. Intern. Med.* Mar 2001;161 (7), 685–693.
75. Mancia, G. *et al.* Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *J. Hypertens.* Sep 2009. 27, 2121–2158.
76. Mancia, G. *et al.* 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J. Hypertens.* Sep 2007. 25, 1105–1187.
77. Chobanian, AV *et al.* Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* May 2003; 42, 1206–1252.
78. Turnbull, F. for the Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials. *The Lancet.* Nov 2003; 362, 1527–1535.
79. Turnbull, F. *et al.* Effects of different regimens to lower blood pressure on major cardiovascular events in older and younger adults: meta-analysis of randomised trials. *BMJ.* May 2008. 336, 1121–1123.
80. Messerli, FH, Grossman E, Goldbourt U. Are  $\beta$ -blockers efficacious as first-line therapy for hypertension in the elderly? A systematic review. *JAMA.* Jun 1998. 279, 1903–1907.
81. Lindholm, LH, Carlberg B, Samuelsson O. Should  $\beta$  blockers remain first choice in the treatment of primary hypertension? A meta-analysis. *The Lancet.* Oct 2005. 366, 1545–1553.

- 82.P. Lloyd-Sherlock, J. Beard, N. Minicuci, S. Ebrahim, and S. Chatterji, "Hypertension among older adults in low- and middle-income countries: prevalence, awareness and control," *International Journal of Epidemiology*, vol. 43, no. 1, pp. 116–128, 2014.
- 83.C. T. M. van Rossum, H. van de Mheen, J. C. M. Witteman, A. Hofman, J. P. Mackenbach, and D. E. Grobbee, "Prevalence, treatment, and control of hypertension by sociodemographic factors among the Dutch elderly," *Hypertension*, vol. 35, no. 3, pp. 814–821, 2000.
- 84.M. A. Rafey, "Resistant hypertension in the elderly," *Clinics in Geriatric Medicine*, vol. 25, no. 2, pp. 289–301, 2009.
- 85.C. Franceschi, M. Capri, D. Monti et al., "Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans," *Mechanisms of Ageing and Development*, vol. 128, no. 1, pp. 92–105, 2007.
- 86.D. B. Bartlett, C. M. Firth, A. C. Phillips et al., "The age-related increase in low-grade systemic inflammation (Inflammaging) is not driven by cytomegalovirus infection," *Aging Cell*, vol. 11, no. 5, pp. 912–915, 2012.
- 87.Shayganni E, Bahmani M, Asgaryc M, Rafieian-Kopaei M. Inflammaging and cardiovascular disease: Management by medicinal plants. *Phytomedicine*. Dec 2015; 10:54.
- 88.Zhang, Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Carl J, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. Mar 2010. 464, 104–107.
- 89.Libby, P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev*. Dec 2007; 65(12 Pt 2):S140-6.
90. Berg, AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ. Res*. May 2005. 457. 96 (9), 939–949.

91. Griendling, KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circul. Res.* 2003.108, 1912–1916.
92. Asadbeigi, M, Mohammadi T, Rafieian-Kopaei M, Saki K, Bahmani M, Delfan M. Traditional effects of medicinal plants in the treatment of respiratory diseases and disorders: an ethnobotanical study in the Urmia. *Asian Pac. J. Trop. Med.* Sep 2014; 364–368.
93. Wu JT, Wu LL. Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. *Clin Chim Acta.* Apr 2006; 366:74-80.
94. Pawelec, G. Immunosenescence: impact in the young as well as the old? *Mech. Ageing Dev.* Apr 1999.108 (1), 1–7.
95. Belge, KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, Espevik T, Ziegler-Heitbrock L. The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *J. Immunol.* 2002. 168 (7), 3536–3542.
96. Singh, JA, Furst DE, Bharat, A, Curtis, JR, Kavanaugh AF, Kremer JM, Moreand LW, O'Dell J, Winthrop KL, Beukelman T, Bridges SL, Chatham WW, Paulus HE, Suarez-Almazor M, Bombardier C, Dougados M, Khanna D, King, CM, Leong AL, Matteson EL, Schousboe JT, Moynihan E, Kolba KS, Jain A, Volkman ER, Agrawal H, Bae S, Mudano AS, Patkar NM, Saag KG. 2012. Update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res.* 2008. 64 (5), 625–639.
97. Toledo JO, Moraes CF, Souza VC, Furioso AC, Afonso LC, Córdova C, Nóbrega OT. Tailored antihypertensive drug therapy prescribed to older

- women attenuates circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Clinical Interventions in Aging*. Jan 2015. 10 209–215.
- 98.** Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.
- 99.** Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. Jun 1972;18(6):499-502.
- 100.** Gage JR, Fonarow G, Hamilton M, Widawski M, Martinez-Maza O, Vredevoe DL. Beta blocker and angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy is associated with decreased Th1/Th2 cytokine ratios and inflammatory cytokine production in patients with chronic heart failure. *Neuroimmunomodulation*. 2004;11(3):173-180.
- 101.** Rosenson RS. Modulating atherosclerosis through inhibition or blockade of angiotensin. *Clin Cardiol* 2003;26:305-11.
- 102.** Dulin B, Abraham WT. Pharmacology of carvedilol. *Am J Cardiol* 2004; 93(9A): 3B–6B.
- 103.** Pedersen ME, Cockcroft JR. The vasodilatory beta-blockers. *Curr Hypertens Rep* 2007; 9(4): 269–277.
- 104.** Padwal R, Straus SE, McAlister FA. Cardiovascular risk factors and their impact on decision to treat hypertension: an evidence-based review. *BMJ* 2001; 322: 977–980.
- 105.** Wright JM, Lee C-H, Chamber GK. Systematic review of antihypertensive therapies: does the evidence assist in choosing a first-line drug. *CMAJ* 1999; 161: 25–32.

106. Medical Research Council Working Party. MRC trial of treatment of hypertension: principal results. *BMJ* 1985; 291: 97–104.
107. UK Prospective Diabetes Study Group. Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes. *UKPDS 39*. *BMJ* 1998; 317: 713–720.
108. Calberg B, Samuelsson O, Lindholm LH. Atenolol in hypertension: is it a wise choice? *Lancet* 2004; 364: 1684-1689.
109. Bradley H, Wiysonge CS, Volmink JA, Mayosi BM, Opie LH. How strong is the evidence for the use of beta-blockers as first-line therapy for hypertension? Systematic review and meta-analyses. *J Hypertens* 2006; 24: 2131–2141.
110. Doughty RN, White HD. Carvedilol: use in chronic heart failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2007 Jan; 5(1): 21–31.
111. Flather MD, Shibata MC, Coats AJ, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, Cohen-Solal A, Dumitrascu D, Ferrari R, Lechat P, Soler-Soler J, Tavazzi L, Spinarova L, Toman J, Böhm M, Anker SD, Thompson SG, Poole-Wilson PA; SENIORS Investigators. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J* 2005; 26(3): 215–225.
112. The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcome in high-risk hypertensive patients to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs. diuretic. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA* 2002; 228: 2981–2997.
113. Hansson L, Lindholm, Niskanen L, et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality on hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomized trial. *Lancet* 1999; 353: 611–616.

114. Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004;39:687-99.
115. Müller DN, Derer W, Dechend R. Aliskiren--mode of action and preclinical data. *J Mol Med* 2008; 86(6): 659–662.
116. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J* 2003;17:884-6.
117. Bruunsgaard H, Pedersen AN, Schroll M, Skinhoj P, Pedersen BK. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin Exp Immunol* 1999;118:235-41.
118. Parving H-H, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. The effect of irbersartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001; 345: 870–878.
119. Lindholm LH, Persson M, Alaupovic P, Carlberg B, Svensson A, Samuelsson O. Metabolic outcome during 1 year in newly detected hypertensives: results of the Antihypertensive Treatment and Lipid Profile in a North of Sweden Efficacy Evaluation (ALPINE study). *J Hypertens* 2003; 21: 1563–1574.
120. PROGRESS Collaborative Group. Randomized trial of a perindopril-based-blood pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. *Lancet* 2001; 35: 1033–1041.
121. Roubenoff R, Harris TB, Abad LW, Wilson PW, Dallal GE, Dinarello CA. Monocyte cytokine production in an elderly population: effect of age and inflammation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998;53:M20-6.
122. Paula, RS, Souza VC, Toledo JO, Ferreira, A.P, Brito CJ, Gomes L, Moraes CF, Córdova C, Nóbrega OT. Habitual dietary intake and mediators of the inflammaging process in Brazilian older women. *Aging Clin Exp Res*. Sep 2015. 1-7.

- 123.** Pires, AS, Souza VC, Paula, RS, Toledo JO, Lins TC, Moraes CF, Córdova C, Pereira, RW, Nóbrega OT. Pro-inflammatory cytokines correlate with classical risk factors for atherosclerosis in the admixed Brazilian older women. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2015. 60: 142-146.
- 124.** Ferreira, A.P., Ferreira CB, Souza VC, Furioso AC, Toledo JO, Moraes CF, Córdova C, Nóbrega OT. Risco de distúrbio glicêmico em mulheres idosas ajustado por antropometria e genótipos de citocinas. *Rev Assoc Med Bras*. 2011; 57(5):565-569 .
- 125.** Nobrega OT, Faleiros VP, Telles JL. Gerontology in the developing Brazil: achievements and challenges in public policies. *Geriatr Gerontol Int* 2009;9:135-9.
- 126.** Franceschi C, Capri M, Monti D, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev* 2007;128:92-105.
- 127.** Yuengsrigul A, Chin TW, Nussbaum E. Immunosuppressive and cytotoxic effects of furosemide on human peripheral blood mononuclear cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:559-66.
- 128.** Haddad JJ, Land SC. Amiloride blockades lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine biosynthesis in an IkappaB-alpha/NF-kappaB-dependent mechanism. Evidence for the amplification of an antiinflammatory pathway in the alveolar epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002;26:114-26.
- 129.** Gavrilova SA, Demidov LV, Medvedeva NA, Ashmarin IP. Chronic administration of interferon- $\alpha$  decreases blood pressure and heart rate in rats. *Bull Exp Biol Med* 2000;129:413-6.
- 130.** Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, et al. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mechanisms of Ageing and Development* 2003;124:487-93.
- 131.** Maggio M, Guralnik JM, Longo DL, Ferrucci L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006;61:575-84.

- 132.** Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:108-17.
- 133.** Roubenoff R, Harris TB, Abad LW, Wilson PW, Dallal GE, Dinarello CA. Monocyte cytokine production in an elderly population: effect of age and inflammation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998;53:M20-6.
- 134.** Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004;39:687-99.
- 135.** Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J* 2003;17:884-6.
- 136.** Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 2005;98:1154-62.
- 137.** Bruunsgaard H, Pedersen AN, Schroll M, Skinhoj P, Pedersen BK. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin Exp Immunol* 1999;118:235-41.
- 138.** Bonafe M, Olivieri F, Cavallone L, et al. A gender--dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *Eur J Immunol* 2001;31:2357-61.
- 139.** Karnikowski M, Cordova C, Oliveira RJ, Karnikowski MG, Nobrega OT. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-aged and older adults. *Sao Paulo medical journal = Revista paulista de medicina* 2007;125:333-7.
- 140.** Epstein BJ, Smith SM, Choksi R. Recent changes in the landscape of combination RAS blockade. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2009;7:1373-84.
- 141.** Principal results of the Japanese trial to assess optimal systolic blood pressure in elderly hypertensive patients (JATOS). *Hypertens Res* 2008;31:2115-27.
- 142.** Saruta T, Hayashi K, Ogihara T, Nakao K, Fukui T, Fukiyama K. Effects of candesartan and amlodipine on cardiovascular events in

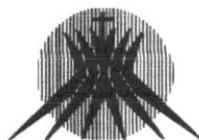
hypertensive patients with chronic kidney disease: subanalysis of the CASE-J Study. *Hypertens Res* 2009;32:505-12.

- 143.** Ogihara T, Fujimoto A, Nakao K, Saruta T. ARB candesartan and CCB amlodipine in hypertensive patients: the CASE-J trial. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008;6:1195-201

## **8.ANEXOS**

## **8. Anexo 1**

**Aprovação pelos Comitês de Ética em Pesquisa – UCB e FM/UnB**



# Universidade Católica de Brasília - UCB

## Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Brasília, 25 de outubro de 2004

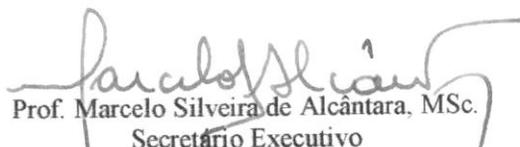
Ofício CEP/UCB N° 082/2004

Prezado senhor,

É com satisfação que informamos formalmente a V. Sa. que o projeto “Imunossenescência: avaliação de parâmetros celulares e humorais de indivíduos idosos e possíveis determinantes genéticos”, tendo atendido às solicitações anteriormente encaminhadas, foi aprovado por este CEP em sua 32ª Reunião, realizada em 20 de outubro do corrente ano, podendo, portanto, ter a sua fase de coleta de dados iniciada. Informamos ainda que no prazo máximo de 1 (um) ano a contar desta data deverá ser enviado a este CEP um relatório sucinto sobre o andamento da presente pesquisa.

Esperando poder servi-lo em outra ocasião, apresentamos nossos votos de estima e consideração.

Atenciosamente,



Prof. Marcelo Silveira de Alcântara, MSc.  
Secretário Executivo  
Comitê de Ética em Pesquisa - UCB

Ilmo Sr.  
Otávio de Toledo Nóbrega  
Brasília – DF  
NESTA



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

---

### ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

**Registro de Projeto:** CEP-FM 061/2011.

**Título:** "Associação de marcadores imunológicos e genômicos com doença aterosclerótica no paciente ambulatorial idoso".

**Pesquisador Responsável:** Otávio de Tolêdo Nóbrega.

**Documentos analisados:** Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo (s) de pesquisador (es).

**Data de entrega:** 22/08/2011.

Parecer do (a) relator (a)

**Aprovação**

**Não aprovação.**

**Data da primeira análise pelo CEP-FM/UNB:** 10/10/2011.

**Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UNB:** 26/12/2011.

---

### PARECER

Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, a coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR** "ad referendum" do CEP-FM, conforme parecer do (a) relator (a), o projeto de pesquisa acima especificado quanto aos seus aspectos éticos.

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
2. O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM, sendo o 1º previsto para 20 de julho de 2012.

Brasília, 18 de Janeiro de 2012.

  
**Prof. Elaine Maria de Oliveira Alves**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
Faculdade de Medicina-UNB

**Anexo 2**  
**Ficha Clínica/Anamnese**

## FICHA CLÍNICA/ANAMNESE

<b>1. Identificação:</b>		
<b>2. Etnia auto-referida:</b> <input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Parda <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Índia G_____ P_____ A_____		
<b>3. Tempo de Consulta Médica</b> _____ min.		
<b>4. História da Doença Atual:</b> Idade _____ anos Peso _____ Kg		
<input type="checkbox"/> Hipertensão Arterial	<input type="checkbox"/> Osteoartrite	<input type="checkbox"/> Insuficiência Cardíaca
<input type="checkbox"/> Diabetes	<input type="checkbox"/> Osteoporose	<input type="checkbox"/> Asma
<input type="checkbox"/> Incontinência Urinária	<input type="checkbox"/> Depressão	<input type="checkbox"/> Doença Tireoidiana
<input type="checkbox"/> Doença de Chagas	<input type="checkbox"/> AVE	<input type="checkbox"/> Distúrbios Circulatórios
<input type="checkbox"/> Catarata	<input type="checkbox"/> CA	<input type="checkbox"/> Tu Benigno
<input type="checkbox"/> Outros _____		
<b>5. História Patológica Progressa:</b>		
<input type="checkbox"/> Câncer	<input type="checkbox"/> Doença Tireoidiana	
<input type="checkbox"/> Tu Benigno	<input type="checkbox"/> Asma	
<input type="checkbox"/> Catarata	<input type="checkbox"/> Complicação Gestacional	
<input type="checkbox"/> Infecções – qual(is)?	<input type="checkbox"/> Complicação Puerperal	
<input type="checkbox"/> Outros: _____	<input type="checkbox"/> Cirurgia(s) – qual(is)?	
<b>6. História Familiar:</b>		
<input type="checkbox"/> Doença Tireoidiana	<input type="checkbox"/> Osteoporose	
<input type="checkbox"/> Diabetes	<input type="checkbox"/> Etilismo	
<input type="checkbox"/> Cardiopatia	<input type="checkbox"/> Asma	
<input type="checkbox"/> HAS	<input type="checkbox"/> CA	
<input type="checkbox"/> AVE	<input type="checkbox"/> IAM	
<b>7. História Social Atual:</b>		
<input type="checkbox"/> Fumo	<input type="checkbox"/> Sedentarismo	
<input type="checkbox"/> Insônia	<input type="checkbox"/> Etilismo	
<input type="checkbox"/> Outros: _____		
<b>8. Hábitos Urinários:</b>		
Frequência diurna -		
Frequência noturna -		
<b>9. Exame Físico:</b>		
<b>ACV</b>		
<b>Fc:</b>		
<b>AR</b>		

<b>ABD</b>
<b>MMSI</b>
<b>Outros:</b>

---

\_\_\_\_\_ **DATA:** \_\_\_\_\_  
Médico

**Anexo 3**  
**Ficha de Pressão Arterial**

## FICHA DE PRESSÃO ARTERIAL

### Observações Importantes:

- ❖ Deverá ser realizada uma medida da pressão arterial em cada membro (MD e ME) tanto na posição ortostática quanto na posição sentada.
- ❖ Valores de pressão arterial diastólica com diferenças acima de 5mmHg deverão ser reafetadas.
- ❖ A paciente deverá ser informada sobre a normalidade de se realizar as várias medidas de pressão arterial antes de se iniciar o procedimento.

### Posição sentada

#### Membro Direito (MD)

PA Sistólica \_\_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica \_\_\_\_\_ mmHg

#### Membro Esquerdo (ME)

PA Sistólica \_\_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica \_\_\_\_\_ mmHg

#### Membro Direito e Membro Esquerdo

(Preencher em caso de PA diastólica com diferença maior que 5mmHg entre os membros)

PA Diastólica MD \_\_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica ME \_\_\_\_\_ mmHg

### Posição ortostática

#### Membro Direito (MD)

PA Sistólica \_\_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica \_\_\_\_\_ mmHg

#### Membro Esquerdo (ME)

PA Sistólica \_\_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica \_\_\_\_\_ mmHg

#### Membro Direito e Membro Esquerdo

(Preencher em caso de PA diastólica com diferença maior que 5mmHg entre os membros)

PA Diastólica MD \_\_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica ME \_\_\_\_\_ mmHg

### Valores de referência adotados:

#### Normal:

<130mmHg Sistólica e < 85mmHg Distólica

#### Limítrofe:

130-139mmHg Sistólica e  
85-89mmHg Diastólica

#### Hipertensão:

≥140mmHg Sistólica e ≥90mmHg Diastólica

### Resultados:

Hipotensão:  Sistólica  Diastólica

PA Normal:  Sistólica  Diastólica

PA Limítrofe:  Sistólica  Diastólica

PA Elevada:  Sistólica  Diastólica

**9. Anexo 4**  
**Ficha de Avaliação Farmacológica**





**Anexo 5**  
**Guia de Solicitação de Exames**



Universidade Católica de Brasília

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Gerontologia

## GUIA DE SOLICITAÇÃO DE EXAMES

Paciente: \_\_\_\_\_  
Prontuário nº \_\_\_\_\_

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Hemograma (contagem global e diferencial, hemoglobina, VCM e sedimentação de eritrócitos) | <input type="checkbox"/> Sódio  |
| <input type="checkbox"/> Glicemia de jejum   | <input type="checkbox"/> Potássio   |
| <input type="checkbox"/> Lipidograma   | <input type="checkbox"/> Ácido Úrico  |
| <input type="checkbox"/> TGO   | <input type="checkbox"/> Proteinúria  |
| <input type="checkbox"/> TGP   | <input type="checkbox"/> Depuração de creatinina                            |
| <input type="checkbox"/> Fosfatase alcalina  | <input type="checkbox"/> Urina tipo 1 EAS (Elementos Anormais e Sedimentos) |

todos exames listados acima

Brasília, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do médico

***Pesquisador responsável: Prof. Clayton Franco Moraes***

*Guia de solicitação de exames*

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa – Mestrado em Gerontologia  
EPCT Q.S. 7, lote 1 - Águas Claras – sala B-105 A/B  
CEP: 72030-170 - Brasília – DF

claytonf@ucb.br  
Fone: 0xx61 3356-9693  
Fax: 0xx61 3356-3010

**Anexo 6**  
**Artigos publicados**

# Tailored antihypertensive drug therapy prescribed to older women attenuates circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$

This article was published in the following Dove Press journal:  
Clinical Interventions in Aging  
9 January 2015  
Number of times this article has been viewed

Júliana O Toledo<sup>1</sup>  
Clayton F Moraes<sup>2,3</sup>  
Vinícius C Souza<sup>2</sup>  
Audrey C Tonet-Furioso<sup>2</sup>  
Luís CC Afonso<sup>4</sup>  
Cláudio Córdova<sup>3</sup>  
Otávio T Nóbrega<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Health Sciences,  
<sup>2</sup>Graduate Program in Medical Sciences,  
University of Brasília, Brasília, <sup>3</sup>Graduate  
Program in Gerontology, Catholic  
University of Brasília, Brasília, <sup>4</sup>Research  
Center in Biological Sciences, Federal  
University of Ouro Preto, Ouro Preto,  
Brazil

**Objective:** To test the hypothesis that antihypertensive drug therapy produces anti-inflammatory effects in clinical practice, this study investigated circulating levels of selected proinflammatory mediators (interleukin-6 [IL-6], tumor necrosis factor- $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ], and interferon- $\gamma$  [INF- $\gamma$ ]) in response to multivariate drug directions for blood pressure (BP) control.

**Methods:** Prospective study involving 110 hypertensive, community-dwelling older women with different metabolic disorders. A short-term BP-lowering drug therapy was conducted according to current Brazilian guidelines on hypertension, and basal cytokine levels were measured before and after intervention.

**Results:** Interventions were found to represent current hypertension-management practices in Brazil and corresponded to a significant reduction in systolic and diastolic BP levels in a whole-group analysis, as well as when users and nonusers of the most common therapeutic classes were considered separately. Considering all patients, mean IL-6 and TNF- $\alpha$  levels showed a significant decrease in circulating concentrations ( $P < 0.01$ ) at the endpoint compared with baseline, whereas the mean INF- $\gamma$  level was not significantly different from baseline values. In separate analyses, only users of antagonists of the renin-angiotensin system and users of diuretics exhibited the same significant treatment-induced reduction in serum IL-6 and TNF- $\alpha$  observed in the whole group.

**Conclusion:** Our data demonstrates that a clinically guided antihypertensive treatment is effective in reversing the low-grade proinflammatory state of serum cytokines found in postmenopausal women and support extracardiac benefits from diuretics and renin-angiotensin system antagonists.

**Keywords:** renin-angiotensin system, cytokine, hypertension, drug therapy, guidelines, inflammation

## Introduction

Angiotensin II, the active principle of the renin-angiotensin system (RAS), in addition to playing a role in the regulation of blood pressure (BP), shows key proinflammatory effects upon stimulation of its type 1 receptor (AT<sub>1</sub>R).<sup>1,2</sup> Furthermore, sympathoexcitation and its catecholamine products also exhibit proinflammatory effects attributable to  $\beta$ 1-adrenoceptor-triggered pathways.<sup>3</sup> Thus, enhanced sympathetic and RAS activities, often present in hypertension and diabetes, are important determinants of endothelial dysfunction and complications concerning the contribution of immune mediators.<sup>4,5</sup> RAS antagonists have proven to reverse both systemic<sup>6</sup> and site-specific (hepatic,<sup>7</sup> lung,<sup>8</sup> and vascular,<sup>9</sup> among others) inflammatory phenotypes in vivo and in vitro models. Anti-inflammatory effects of these antagonists include blocking the AT<sub>1</sub>R-mediated activation of nuclear factor kappa B, a transcriptional activator of proinflammatory cytokines,

Correspondence: Otávio de Tolêdo Nóbrega  
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Médicas, Universidade de Brasília – UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília, DF 70910-900, Brazil  
Tel +55 61 3307 2520  
Email nobrega@pq.cnpq.br

submit your manuscript | www.dovepress.com

Dovepress

<http://dx.doi.org/10.2147/ CIA.S74790>

Clinical Interventions in Aging 2015:10 209–215

209

 This work is published by Dove Medical Press Limited, and licensed under Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) license. The full terms of the License are available at <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. Permissions beyond the scope of the License are administered by Dove Medical Press Limited. Information on how to request permission may be found at: <http://www.dovepress.com/permissions.php>

such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and/or upregulation of its inhibitor, I $\kappa$ B.<sup>10</sup> Therefore, selective  $\beta$ 1-adrenoceptor blockers result in suppression of norepinephrine-triggered inflammation and preferential  $\beta$ 2-adrenoceptor stimulation by endogenous epinephrine, with reduction in proinflammatory cytokine release.<sup>11–13</sup>

However, the clinical importance of these findings should be assessed with caution. Studies with human subjects are usually designed to produce conclusions from standardized, monotherapeutic procedures to all patients and do not usually follow the paradigm of clinical care, in which a tailored drug therapy takes into account a constellation of comorbidities, risk factors, target organ injuries, and adverse drug reactions in addition to BP levels. Concerning the elderly population, although investigations under standard conditions may provide valuable guidance to assist patients in regular circumstances, these assessments often neglect important interactions that may yield results at odds with experimental data. Our perspective relies on the assumption that an unorthodox test employing distinct, customized antihypertensive therapies based on a modern health-management policy would help test how effectively changes in the inflammatory profile could be observed in clinical practice.

In view of the foregoing and considering that the aging process is characterized by latent, overactive innate immune elements that contribute to a number of age-associated diseases,<sup>14</sup> we examined the response of circulating cytokine levels to short-term, customized antihypertensive pharmacotherapy, following current directives on treatment of systemic arterial hypertension, prescribed to a subset of the Prognosis and Therapeutics in Geriatrics Project from Brasília, Brazil.

## Materials and methods

### Study and subjects

A prospective study was conducted using data obtained from community-dwelling, female outpatients from the urban outskirts of Brasília, the city capital of Brazil, aged 60 years or older and enrolled in a Catholic University of Brasília project to undertake screening and intervention to prevent atherosclerotic disorders. Our protocols were approved by the Institutional Review Board of the Catholic University of Brasília. Participation was voluntary, and written informed consent was obtained from all participants in accordance with the Declaration of Helsinki.

### Admission procedures

For admission to this study, each subject was required to undergo an initial evaluation of biochemical, anthropometric,

and clinical parameters. Hypertension was defined according to the IV Brazilian Guidelines on the disease,<sup>15,16</sup> which do not deviate from international standards. Only hypertensive patients diagnosed in 2005, confirmed in 2006/2007 and who did not benefit from BP lowering with prior antihypertensive therapies were included. BP was measured after a resting period of 10 minutes, and values for each subject were the mean of at least two physician-obtained assessments. For the present investigation, held in 2009, the initial BP assessment was performed in both upper limbs, and if a difference was noticed, the higher-pressure arm was used for obtainment of all future BP measures. Patients with confirmed systemic hypertension were eligible for the study. Prior or current use of antihypertensive medication on admission accounted to the diagnostic procedure.

Body mass index (BMI; kg/m<sup>2</sup>) and waist-to-hip circumference ratio (centimeters of waist/centimeters of hip) was assessed for each patient. Body weight was measured to the nearest 0.1 kg, with participants wearing light clothes, and height to the nearest 0.1 cm without shoes. Waist circumference was measured midway between the lower costal margin and iliac crest, and hip circumference was measured at the maximum width over the greater trochanters.

Laboratory evaluation included serum renal (uric acid and creatinine) and liver (aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase) tests. Creatinine clearance was estimated using serum creatinine as described by Cockcroft and Gault.<sup>7</sup> Fasting serum levels of glucose and lipids (triglycerides, total cholesterol, and high-density lipoprotein cholesterol) were also obtained as metabolic markers. Low-density lipoprotein cholesterol<sup>8</sup> was calculated according to Friedewald's formula.<sup>18</sup> All tests were performed in the same laboratory certified by the Accreditation Program of Clinical Laboratories of the Brazilian Society of Clinical Pathology, with reagents from Boehringer Mannheim (Germany). Serum levels of sodium and potassium were determined by flame photometry using ion-specific probes (Celm ; Barueri, SP, Brazil). Proteinuria was determined by an immunonephelometric assay (Bering ; Marburg, Germany) using a 24-hour urine collection.

Cases of secondary or malignant hypertension as well as clinical history of arrhythmia, coronary disease, or stroke within the previous 12 months were excluded. Other exclusion criteria were serum levels of kidney or liver markers compatible with abnormal organ function, uncontrolled type 2 diabetes mellitus and/or signs of current inflammation, infection, or malignancies. Active type 2 diabetes mellitus

was characterized by fasting blood glucose 126 mg/dL despite the use of insulin or oral antidiabetes drugs.

## Follow-up clinical procedures

The pharmacological intervention was freely chosen by the physician within the boundaries of the IV Brazilian Guidelines on Systemic Arterial Hypertension, which recommend that patients receive maintenance treatment with single or combined drug therapy based on the following drug classes: diuretics, beta blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, and calcium-channel and AT<sub>1</sub>R antagonists. Each drug therapy preferably started with the minimum effective daily dose regimen, except for when a prior, ineffective regimen was already in the clinical records of the patient. Two weeks were required before increasing any dose, substituting the active principle, or switching to a combined drug therapy. Whenever clinically appropriate, diuretics were introduced as first-line treatment, followed by angiotensin-converting enzyme inhibitors or AT<sub>1</sub>R antagonists, herein referred to as RAS antagonists. All treatments were intended to be orally effective, to preserve the patient's quality of life, and to consider socioeconomic and health conditions. Instructions on how to obtain drugs from the public health system were constantly provided.

For this study, the endpoint for clinical intervention was when any reduction in systolic BP was observed between baseline and a minimum of two consecutive visits under any dosage regimen. All interventions were conducted in a blinded fashion by the practitioners.

## Cytokine quantification

For the measurement of immune mediators, whole-blood samples were drawn in the morning (between 8:00 and 9:30 am) into endotoxin-free tubes at two time points: on admission to the protocol and at the endpoint of treatment. Serum was separated from clotted whole blood within 1 hour of collection and stored in aliquots at -80°C until the processing day, when samples were analyzed in batches using specific enzyme-linked immunosorbent assay kits (eBioscience, San Diego, CA, USA) and processed in duplicate. The minimum detectable doses were experimentally determined as 1.0 pg/mL, 1.6 pg/mL, and 2.0 pg/mL for IL-6, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$ , respectively. The measurements of all cytokines resulted in mean intra-assay coefficients of variation below 5%.

## Statistical procedures

The Kolmogorov–Smirnov test was employed to assess normal distribution of data from continuous variables in a

whole-sample or in a within-group approach. The paired Student's *t*-test was used to compare the means of normally distributed variables, whereas the two-related-samples Wilcoxon test was used to compare the means for nonnormal distribution across baseline and endpoint. For nonparametric purposes, the chi-square test was used. All analyses were per-formed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS ) for Windows (version 17.0). A *P*-value 0.05 was considered statistically significant.

## Results

### Clinical outcomes

A total of 110 patients completed the study. The baseline characteristics of the patients are summarized in Table 1 and are consistent with those expected for an elderly hypertensive sample. Mean BMI was 28.4 kg/m<sup>2</sup>, which is within the clinical range for overweight (27–30 kg/m<sup>2</sup>). Mean fasting triglyceride and glucose levels were 150.3 mg/dL and 102.3 mg/dL, respectively, indicating an increased prevalence of metabolic syndrome according to worldwide consensus.<sup>19</sup> Conversely, mean levels of all serum renal and liver functional markers were within the normal range. Table 1 also shows a remarkable degree of homogeneity in the sample regarding clinical

**Table 1** Clinical and biochemical data of the study population

Parameters	Subjects (n=110)
Age (years)	68.1±6.0
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.4±4.5
Waist-to-hip ratio	0.87±0.06
Fasting glucose (mg/dL)	102.3±14.0
Total cholesterol (mg/dL)	217.4±40.6
HDL cholesterol (mg/dL)	55.0±8.7
LDL cholesterol (mg/dL)	132.2±37.8
Triglycerides (mg/dL)	150.3±64.6
AST (U/L)	24.0±7.3
ALT (U/L)	19.1±9.1
ALP (U/L)	176.4±63.9
Uric acid (mg/dL)	3.71±1.01
Creatinine clearance (mL/min)	74.8±21.3
Proteinuria (mg/24 h)	144.1±66.8
Serum sodium (mEq/L)	140.1±2.1
Serum potassium (mEq/L)	4.29±0.42
Baseline SBP (mmHg)	163.0±20.6
Baseline DBP (mmHg)	92.5±12.2
Endpoint SBP (mmHg)	140.9±15.4
Endpoint DBP (mmHg)	83.7±8.5
DM2	12.7

**Note:** Data expressed as mean ± standard deviation, except for DM2 (as percentage). **Abbreviations:** ALP, alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; DM2, type 2 diabetes mellitus; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; n, number; SBP, systolic blood pressure.

and laboratory characteristics, expressed as low skewness values (3.0) of the continuous variables.

During drug therapy, the study subjects had an absolute count of 189 episodes of drug prescription (each individual agent considered as one episode) throughout 430 medical appointments ( $2.5 \pm 1.6$  appointments/patient). The highest modal frequencies of appointments were two and three returning visits, reaching up to eight returns in a few cases. The number of prescription episodes to achieve BP reduction ranged from one to four different antihypertensive agents/patient per day ( $1.7 \pm 0.9$  prescription episodes/patient). While 45.4% ( $n=50$ ) of the users received a prescription for one single drug, 39.1% ( $n=43$ ) received two and 15.5% ( $n=17$ ) received three or four medications simultaneously. In our study, diuretics and RAS antagonists were the most common therapeutic classes, being used by 63.6% ( $n=70$ ) and 55.5% ( $n=61$ ) of the patients, followed by calcium-channel blockers (24.5%;  $n=27$ ) and  $\beta$ -adrenergic blockers (20%;  $n=22$ ). Between baseline and endpoint, mean systolic BP decreased 22.1 mmHg ( $P 0.001$ ) and mean diastolic BP decreased 8.8 mmHg ( $P 0.001$ ) (Table 1).

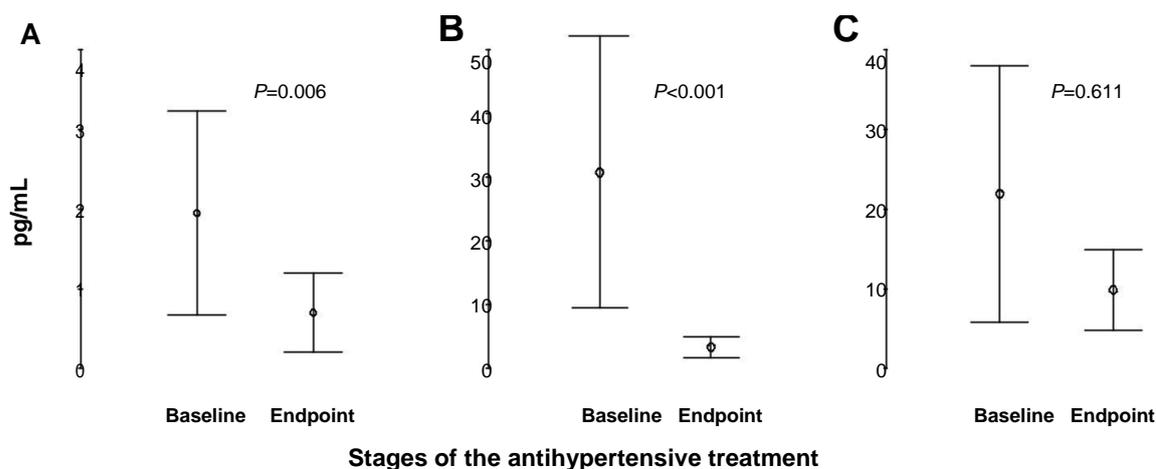
### Association of cytokine levels with antihypertensive response

Pretreatment and posttreatment basal cytokine levels are summarized in Figure 1. At endpoint, mean IL-6 and TNF- $\alpha$  levels showed a significant decrease in circulating concentration ( $P 0.01$ ) considering all patients. IFN- $\gamma$  levels at endpoint were not different from baseline. Due to a possible association between drug choices and the pattern of antihypertensive

and anti-inflammatory responses, differences between users and nonusers of the therapeutic classes were investigated (Table 2). This analysis revealed that all baseline characteristics, such as clinical and biochemical parameters, remained well matched between groups and that the main intervention regimens employed could produce very similar changes in mean BP levels, with average systolic BP, which was moderately hypertensive (160–179 mmHg) at baseline, dropping to a mild hypertensive state (140–159 mmHg)<sup>16</sup> in all therapeutic scenarios. Furthermore, this approach revealed that only users of RAS antagonists and users of diuretics exhibited a magnitude of treatment-induced reduction in circulating IL-6 and TNF- $\alpha$  similar to that observed in the whole group, whereas treatment with blockers of either calcium-channel or  $\beta$ -adrenergic receptors failed to parallel the general trend. Differences in IFN- $\gamma$  levels remained not apparent in spite of this analytical step.

### Discussion

In order to assess whether a circulating cytokine-reducing effect was likely to result from hypertension management practices in current clinical practice, the present study investigated a possible anti-inflammatory response in patients receiving different drug prescriptions within the norms of a nationwide (Brazilian) consensus on treatment of systemic arterial hypertension. In this study, the pattern of drug usage achieved was consistent with the routine on hypertension management that is carried out by medical practitioners nationally,<sup>20</sup> with a trend toward reproducing the medical attention that is directed to hypertensive older adults in the



**Figure 1** General effects of customized antihypertensive drug therapy on circulating cytokine levels in a whole-group analysis ( $n=110$ ).  
**Notes:** (A) IL-6. (B) TNF- $\alpha$ . (C) IFN- $\gamma$ . Data are expressed as means  $\pm$  standard error. *P* values from two-related-samples Wilcoxon test.  
**Abbreviations:** IFN, interferon; IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor.

**Table 2** Effects of customized antihypertensive drug therapy on circulating levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$  comparing users and nonusers of the most common antihypertensive classes

Drug class	Condition (n)	IL-6 (pg/mL)		TNF- $\alpha$ (pg/mL)		IFN- $\gamma$ (pg/mL)	
		Baseline	Endpoint	Baseline	Endpoint	Baseline	Endpoint
RAS antagonists	Users (61)	1.6 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.4	21.1 $\pm$ 9.9	4.3 $\pm$ 1.3*	16.5 $\pm$ 7.8	14.9 $\pm$ 4.3
	Nonusers (49)	2.4 $\pm$ 1.3	0.3 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>	42.8 $\pm$ 20.5	2.1 $\pm$ 0.9*	28.5 $\pm$ 15.3	3.5 $\pm$ 1.7
Diuretics	Users (70)	2.6 $\pm$ 1.0	0.9 $\pm$ 0.4*	40.7 $\pm$ 16.6	4.2 $\pm$ 1.2*	22.8 $\pm$ 10.8	7.3 $\pm$ 3.2
	Nonusers (40)	0.7 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.2	13.4 $\pm$ 3.5	1.9 $\pm$ 0.9 <sup>†</sup>	20.2 $\pm$ 11.7	14.2 $\pm$ 4.1
Ca <sup>2+</sup> channel blockers	Users (27)	1.5 $\pm$ 0.7	0.6 $\pm$ 0.4	36.4 $\pm$ 30.3	1.6 $\pm$ 1.3	1.2 $\pm$ 0.7	5.0 $\pm$ 2.7
	Nonusers (83)	2.1 $\pm$ 0.8	0.7 $\pm$ 0.3*	28.9 $\pm$ 10.2	3.9 $\pm$ 1.0 <sup>#</sup>	28.6 $\pm$ 10.6	11.4 $\pm$ 3.2
$\beta$ -adrenergic blockers	Users (22)	0.6 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.6	11.3 $\pm$ 4.2	6.0 $\pm$ 2.7	43.9 $\pm$ 27.7	16.2 $\pm$ 9.7
	Nonusers (88)	2.3 $\pm$ 0.8	0.6 $\pm$ 0.3*	35.6 $\pm$ 13.7	2.7 $\pm$ 0.8 <sup>‡</sup>	16.4 $\pm$ 7.3	8.2 $\pm$ 2.1

Notes: Data expressed as means  $\pm$  standard error. P-values from two-related-samples Wilcoxon test. \*P<0.05; <sup>#</sup>P<0.005; <sup>‡</sup>P<0.001.

Abbreviations: IFN, interferon; IL, interleukin; n, number; RAS, renin-angiotensin system; TNF, tumor necrosis factor.

Unified Health System (SUS – Sistema Único de Saúde), the Brazilian public health care service that is characterized by insufficient assistance to all citizens despite the premise of universal coverage.<sup>21</sup> Using this protocol, we demonstrated that short-term, clinically guided antihypertensive treatment is effective in reversing the low-grade proinflammatory state of serum cytokines found in older women with different metabolic disorders, known as “inflammaging.”<sup>14</sup> The most interesting result obtained in our analysis was the absence of a cytokine-lowering effect with the use of  $\beta$ -adrenoceptor blockers, despite experimental evidence in favor of such action. Taken together, our results provide evidence that the pharmaceutical classes of Ca<sup>2+</sup> channel and  $\beta$ -adrenergic blockers per se do not produce an anti-inflammatory response. But our findings do not rule out anti-inflammatory properties of these drug classes by means other than a cytokine-lowering effect, or even by this very mechanism but not in a form as intense as that induced by RAS antagonists and diuretics under field conditions.

Diuretics, which were not expected to reduce cytokines, produced a marked decrease in serum levels of both IL-6 and TNF- $\alpha$ . Our results are not likely to derive from an overlap between the use of diuretics and RAS antagonists, since concomitant prescription of both classes was observed in only 28.8% (n=31) of all cases. Based on chi-square analyses, we concluded that both drug classes had a dissimilar, excluding distribution among the older women, since 79.6% of the nonusers of RAS antagonists were users of diuretics, and 75% of the nonusers of diuretics were users of RAS antagonists ( $\chi^2=9.72$ ;  $P=0.002$ ). This counterintuitive effect of diuretics is not entirely surprising, as our data corroborate the small amount of literature evidence in which a loop diuretic as well as a potassium-sparing counterpart attenuated levels of the same proinflammatory cytokines considered herein.<sup>22–26</sup>

Although the exact anti-inflammatory mechanism of diuretics remains unknown, our data support extracardiac benefits, as all options of drug therapy used in this study were associated with a significant lowering in both systolic and diastolic BP, which, if effective per se, would have produced a similar cytokine-lowering response by treatment with all other drug classes. Therefore, reduction in IL-6 and TNF- $\alpha$  levels may not be related solely to biomechanical relief of peripheral baroreceptors as described elsewhere for IFN- $\gamma$  levels.<sup>27</sup>

An intriguing result was a nonsignificant effect of the treatment with RAS antagonists on serum IL-6 levels. Although epidemiological studies have reported an inverse correlation between IL-6 and successful aging,<sup>28,29</sup> IL-6 is likely to act as a surrogate marker of TNF- $\alpha$ , because the production of the two cytokines is closely related (TNF- $\alpha$  triggers IL-6 production)<sup>30</sup> and also because local TNF- $\alpha$  does not readily escape through the bloodstream and only gradually rises with the progression of pathological aging.<sup>31,32</sup> Moreover, although IL-6 is often classified as proinflammatory, it also has very important, context-sensitive anti-inflammatory properties, including inhibition of TNF- $\alpha$  gene transcription,<sup>33</sup> which are more prominent in the absence of TNF- $\alpha$  expression.<sup>34</sup>

The present study had some limitations. Firstly, timing (number and frequency of appointments) and dosage (amount and frequency of drug consumption) of any drug intervention may have a major impact on determining acute inflammatory responses, and the present analyses were not controlled for such variables. Thus, these interferences cannot be ruled out. Secondly, the rather small number of subjects, mainly in analyses involving segregation, may have limited the ability to determine differences in bio-markers and clinical outcomes. Thirdly, since the study was conducted with a series of female patients, the authors do

not suggest direct extrapolation of our conclusions to male subjects due to substantial sex-related changes in basal and stimulated cytokine levels.<sup>35,36</sup> At last, because our design aimed at evaluating short-term response to antihypertensive pharmacotherapy, interventions were performed based on the assumption that most treatments would not achieve optimal endpoints, which may have limited the extent of the cytokine-lowering effect observed in our setting. None-theless, the authors believe that the study reproduces the current scenario of hypertension management practices in our country and abroad, where suboptimal control is often the best outcome that is possible.

## Conclusion

Our study revealed that attaining to the antihypertensive drug therapy advocated by the Brazilian guidelines significantly attenuates serum levels of the most relevant proinflammatory mediators implicated in the inflammaging of the human biology, with undetectable effects on other mediators involved to a lesser extent in the phenomenon. These data reassure extracardiac, anti-inflammatory benefits from BP-lowering drug therapy in the elderly. Our findings also suggest that the RAS is likely to play an important role in this overstimulated state of the aging immune system and encourage further investigation on the pathway as well as on possible modulators of the inflammaging, particularly in a population with high prevalence of metabolic syndrome.<sup>37</sup> A body of data has shown that even after normalization of BP, hypertensive individuals continue to have an enhanced risk of coronary events as compared with nonhypertensive ones.<sup>38,39</sup> Equivalent BP control by different therapeutic regimens has resulted in distinct incidence of cardiovascular events and complications.<sup>40,41</sup> Evidence such as this has reinforced the concept that high BP is indeed only an element of the hypertensive syndrome.

By both hemodynamic and molecular mechanisms, hypertension is strongly associated with systemic inflammatory activity. This effect has an important role in atherogenesis, and may be a link to the persistent high risk for cardiovascular events in hypertensive individuals under effective BP control. To the present, however, very little is known about the impact of different antihypertensive therapies on systemic inflammatory activity. In this context, the objective of this study was to compare in a "real life" setting the anti-inflammatory effect of different antihypertensive treatments. Our findings open the door to discussion of how different antihypertensive treatments may be, even when

they obtain similar control of BP. But because association does not necessarily indicate causation, and to determine if the association observed herein is other than incidental, such relationship must be tested using other study designs, such as public policy-guided interventions abroad and/or with larger samples, as long as comparable age and sex strata and drug therapy options are considered. The effects of other candidate mediators and associated factors should also be tested in these patients.

## Acknowledgments

This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (grant # 484318/2006-3) and Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação/ University of Brasília (grant # 100650/2009). VC Sousa and AC Tonet-Furioso received student fellowships from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior and CNPq, respectively. LCC Afonso and OT Nóbrega received fellowships for productivity in research from CNPq.

## Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

## References

1. Cheng ZJ, Vapaatalo H, Mervaala E. Angiotensin II and vascular inflammation. *Med Sci Monit.* 2005;11(6):RA194-RA205.
2. Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Gomez-Guerrero C, Tomino Y, Egido J. Angiotensin II, the immune system and renal diseases: another road for RAS? *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(8):1423-1426.
3. Gage JR, Fonarow G, Hamilton M, Widawski M, Martínez-Maza O, Vredevoe DL. Beta blocker and angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy is associated with decreased Th1/Th2 cytokine ratios and inflammatory cytokine production in patients with chronic heart failure. *Neuroimmunomodulation.* 2004;11(3):173-180.
4. Rosenson RS. Modulating atherosclerosis through inhibition or block-ade of angiotensin. *Clin Cardiol.* 2003;26(7):305-311.
5. Rosenson RS. New approaches in the intensive management of cardiovascular risk in the metabolic syndrome. *Curr Probl Cardiol.* 2005;30(5):241-279.
6. Steen V. Targeted therapy for systemic sclerosis. *Autoimmun Rev.* 2006; 5(2):122-124.
7. Zhang X, Li ZZ, Liu DF, Xu X, Mei ZC, Shen W. Angiotensin-converting enzyme inhibitors improve hepatic steatosis by modulating expression of tumour necrosis factor-alpha, interleukin-6 and adiponectin receptor-2 in rats with type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2009;36(7):631-636.
8. Hagiwara S, Iwasaka H, Matsumoto S, Hidaka S, Noguchi T. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on the inflammatory response in vivo and in vitro models. *Crit Care Med.* 2009;37(2):626-633.
9. Flammer AJ, Sudano I, Hermann F, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves vascular function in rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2008;117(17):2262-2269.
10. Sanz-Rosa D, Oubiña MP, Cedjel E, et al. Effect of AT1 receptor antagonism on vascular and circulating inflammatory mediators in SHR: role of NF-kappaB/IkappaB system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288(1):H111-H115.

11. Verhoeckx KC, Gaspari M, Bijlsma S, et al. In search of secreted protein biomarkers for the anti-inflammatory effect of beta2-adrenergic receptor agonists: application of DIGE technology in combination with multivariate and univariate data analysis tools. *J Proteome Res*. 2005;4(6):2015–2023.
12. Izeboud CA, Monshouwer M, van Miert AS, Witkamp RF. The beta-adrenoceptor agonist clenbuterol is a potent inhibitor of the LPS-induced production of TNF-alpha and IL-6 in vitro and in vivo. *Inflamm Res*. 1999;48(9):497–502.
13. Ackland GL, Yao ST, Rudiger A, et al. Cardioprotection, attenuated systemic inflammation, and survival benefit of beta1-adrenoceptor blockade in severe sepsis in rats. *Crit Care Med*. 2010;38(2):388–394.
14. Franceschi C, Capri M, Monti D, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007;128(1):92–105.
15. Moraes CF, Souza ER, Souza VC, et al. A common polymorphism in the renin-angiotensin system is associated with differential outcome of antihypertensive pharmacotherapy prescribed to Brazilian older women. *Clin Chim Acta*. 2008;396(1–2):70–75.
16. IV Brazilian Guidelines in Arterial Hypertension Work Groups. [IV Brazilian guidelines in arterial hypertension]. *Arq Bras Cardiol*. 2004; 82 Suppl 4:7–22. Portuguese.
17. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31–41.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499–502.
19. International Diabetes Federation. IDF Global Guideline for Managing Older People with Type 2 Diabetes. Available from: <http://www.idf.org/sites/default/files/IDF-Guideline-for-older-people-T2D.pdf>. Accessed December 11, 2014.
20. Mion D Jr, da Silva GV, de Gusmão JL, et al. Do Brazilian physicians follow the Brazilian guidelines on hypertension? *Arq Bras Cardiol*. 2007;88(2):212–217.
21. Nóbrega OT, Faleiros VP, Telles JL. Gerontology in the developing Brazil: achievements and challenges in public policies. *Geriatr Gerontol Int*. 2009;9(2):135–139.
22. Yuengriffs A, Chin TW, Nussbaum E. Immunosuppressive and cytotoxic effects of furosemide on human peripheral blood mononuclear cells. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999;83(6 Pt 1):559–566.
23. Xu B, Makris A, Thornton C, Ogle R, Horvath JS, Hennessy A. Anti-hypertensive drugs clonidine, diazoxide, hydralazine and furosemide regulate the production of cytokines by placentas and peripheral blood mononuclear cells in normal pregnancy. *J Hypertens*. 2006; 24(5):915–922.
24. Rolfe MW, Kunkel SL, Rowens B, Standiford TJ, Cragoe EJ Jr, Strieter RM. Suppression of human alveolar macrophage-derived cytokines by amiloride. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1992;6(6):576–582.
25. Haddad JJ, Land SC. Amiloride blockades lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine biosynthesis in an IkappaB-alpha/NF-kappaB-dependent mechanism. Evidence for the amplification of an antiinflammatory pathway in the alveolar epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002;26(1):114–126.
26. Haddad JJ. Amiloride and the regulation of NF-kappaB: an unsung crosstalk and missing link between fluid dynamics and oxidative stress-related inflammation – controversy or pseudo-controversy? *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;327(2):373–381.
27. Gavrilova SA, Demidov LV, Medvedeva NA, Ashmarin IP. Chronic administration of interferon-alpha decreases blood pressure and heart rate in rats. *Bull Exp Biol Med*. 2000;129(5):413–416.
28. Forsey RJ, Thompson JM, Emerudh J, et al. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev*. 2003;124(4):487–493.
29. Maggio M, Guralnik JM, Longo DL, Ferrucci L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61(6):575–584.
30. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343(2):108–117.
31. Roubenoff R, Harris TB, Abad LW, Wilson PW, Dallal GE, Dinarello CA. Monocyte cytokine production in an elderly population: effect of age and inflammation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1998;53(1): M20–M26.
32. Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol*. 2004;39(5):687–699.
33. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J*. 2003;17(8):884–886.
34. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol (1985)*. 2005;98(4):1154–1162.
35. Bruunsgaard H, Pedersen AN, Schroll M, Skinhoj P, Pedersen BK. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin Exp Immunol*. 1999;118(2):235–241.
36. Bonafè M, Olivieri F, Cavallone L, et al. A gender – dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *Eur J Immunol*. 2001;31(8):2357–2361.
37. Karnikowski M, Córdova C, Oliveira RJ, Karnikowski MG, Nóbrega Ode T. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-aged and older adults. *Sao Paulo Med J*. 2007;125(6):333–337.
38. Epstein BJ, Smith SM, Choksi R. Recent changes in the landscape of combination RAS blockade. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2009;7(11): 1373–1384.
39. JATOS Study Group. Principal results of the Japanese trial to assess optimal systolic blood pressure in elderly hypertensive patients (JATOS). *Hypertens Res*. 2008;31(12):2115–2127.
40. Saruta T, Hayashi K, Ogihara T, Nakao K, Fukui T, Fukiyama K; CASE-J Study Group. Effects of candesartan and amlodipine on cardiovascular events in hypertensive patients with chronic kidney disease: subanalysis of the CASE-J Study. *Hypertens Res*. 2009;32(6):505–512.
41. Ogihara T, Fujimoto A, Nakao K, Saruta T; CASE-J Trial Group. ARB candesartan and CCB amlodipine in hypertensive patients: the CASE-J trial. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2008;6(9):1195–1201.

## Clinical Interventions in Aging

## Publish your work in this journal

Clinical Interventions in Aging is an international, peer-reviewed journal focusing on evidence-based reports on the value or lack thereof of treatments intended to prevent or delay the onset of maladaptive correlates of aging in human beings. This journal is indexed on PubMed Central, MedLine, CAS, Scopus and the Elsevier Bibliographic databases. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/clinical-interventions-in-aging-journal>

Dovepress

## Habitual dietary intake and mediators of the inflammaging process in Brazilian older women

Roberta Silva Paula<sup>1</sup> · Vinícius Carolino Souza<sup>1</sup> · Juliana Oliveira Toledo<sup>1</sup> ·  
Aparecido Pimentel Ferreira<sup>2</sup> · Ciro José Brito<sup>3</sup> · Lucy Gomes<sup>4</sup> ·  
Clayton Franco Moraes<sup>1,4</sup> · Cláudio Cordova<sup>4</sup> · Otávio Toledo Nóbrega<sup>1</sup>

Received: 11 July 2015 / Accepted: 18 August 2015  
Springer International Publishing Switzerland 2015

### Abstract

**Aim** This study aimed to assess whether the habitual intake of macronutrients by older women associates with circulating levels of important inflammaging mediators by means of a cross-sectional design with 229 Brazilian elderly women.

**Methods** Laboratory tests determined serum IL1<sub>a</sub>, IL1<sub>b</sub>, IL6, IL8, IL10, IL12 and TNF<sub>a</sub> by specific immunoassays. Food records of three alternate days were decomposed into usual intake of carbohydrates, proteins and lipids (and fractions), as well as total energy value (TEV) per patient. Moreover, the study has identified and controlled results for metabolic conditions known to influence the inflammatory profile: hypercholesterolemia, hypertension and diabetes.

**Results and discussion** Pearson's correlation test revealed that log<sub>10</sub>IL8 expressed a positive association with levels of saturated fatty acid (FA) ( $r = 0.173$ ;  $p = 0.009$ ) and total cholesterol intake ( $r = 0.223$ ;  $p = 0.001$ ). Similar analysis of the other mediators revealed no association with dietary intake.

**Conclusion** Higher intakes of total cholesterol and saturated FA seem to correlate with increased serum IL8 levels, being a possible mechanism by which this pro-atherogenic

intake pattern may increase the risk of age-related chronic diseases with important inflammatory contribution.

**Keywords** Interleukin Cytokine Inflammation Intake Diet Nutrient

### Introduction

The growth of the world's elderly population is evident [1], and the inflammaging process in which an increased basal inflammatory activity that may lead to the development of aging-related chronic diseases can be closely observed [2]. The atherosclerotic process, for instance, as the result from two basic mechanisms over the tunica intima (cholesterol accumulation and proliferation of smooth muscle cells), develop from lesions with an important local inflammatory component which relates to the circulating inflammatory profile [3]. In such process where macrophages full of lipids are the main components of fatty streaks, early lesions largely responsible for the development of atherosclerotic plaque, the systemic milieu of cytokines may amplify focal inflammation and trigger the proteolytic remodeling of the arterial wall in terms of collagen content and of other tissue components [4].

Understanding the functional properties of the usual dietary profiles and their effects on cardiovascular health, particularly with regard to the modulation of important inflammatory biomarkers, is an important field of study yet poorly considered for prevention and treatment of chronic diseases [5]. So far, different studies have shown associations between dietary patterns of different populations and inflammatory markers [6–10]. The role of carbohydrates for instance on the modulation of systemic inflammation, especially those with high fiber contents and low glycemic

✉ Otávio Toledo Nóbrega  
otnobrega@gmail.com; otavionobrega@unb.br

<sup>1</sup> Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília, DF 70910-900, Brazil

<sup>2</sup> Universidade Paulista, Brasília, Brazil

<sup>3</sup> Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil

<sup>4</sup> Universidade Católica de Brasília, Brasília, Brazil

Published online: 07 September 2015

indexes, need to be further elucidated [11–13]. Furthermore, the putative role of dietary proteins (in terms of quantity and quality) in causing changes in levels of inflammatory markers remains to be consolidated in literature [14–16]. In this scenario, dietary lipids are the most studied classes of macronutrients on what concerns their effect on inflammatory parameters. It is suggested that a single high-fat meal leads to endothelial activation, which is evidenced by increased concentrations of adhesion molecules and increased serum concentrations of pro-inflammatory mediators [17]. All in all, studies should be carried out to assess the relationship between the consumption of these nutrients and subclinical inflammatory processes that follow aging, considering the habitual diet of individuals.

In this context, the aim of this study was to assess in a sample of elderly women the hypothesis-driven association of the usual daily pattern of macronutrient consumption (and of their subfractions) with the circulating levels of inflammatory mediators highly implicated with the inflammaging process, taking the existence of common chronic diseases into account as confounding elements.

## Materials and methods

### Subjects and study design

This report derives from cross-sectional analyses with data obtained from community-dwelling elderly women of the urban outskirts of the Brazilian Federal District, aged 60 or over and inscribed to undergo health screenings and intervention (medical, nutritional and/or pharmacological) to prevent cardiovascular diseases by means of a cohort work known as Prognosis and Therapeutics in Geriatrics (ProTeGer) in Brasília, Brazil. For the present study, we used admission data from non-institutionalized consecutive older women aged 60 years or over which have sought the outpatient clinic for preventive care and have never manifested myocardial infarction, stroke or peripheral arterial disease. Only elderly women were investigated, to prevent biases related to gender. Additional selection criteria were the absence of autoimmune disease (including rheumatic disorders), chronic or recurrent infections, prior or current neoplastic disease, or use of steroidal or nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the past 30 days.

This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki guidelines on good clinical practices and the Institutional ethical committee approved the study. Participation was voluntary and informed written consent was obtained from each subject. No participants were regular practitioners of physical exercises or were receiving nutritional guidance at the time when laboratory and clinical data were obtained.

### Clinical procedures

Each subject was required to undertake a clinical protocol consisting of biochemistry, anthropometrical and clinical examination for admission in this study. Briefly, body mass index [BMI; weight (kg)/height (m<sup>2</sup>)] was determined with patient in light clothing and without shoes. Fat mass (kg) and soft fat-free mass (kg) were measured using dual-energy X-ray absorptiometer (DXA; Lunar DPX-IQ model, software version 4.7e, Lunar Radiation Corp., Madison, WI, USA) according to standard procedures provided by the manufacturer. Absolute fat and fat-free masses were converted into relative masses (%) in relation to body weight.

Biochemical tests included determination of serum total cholesterol (CHL-t), high density lipoprotein cholesterol (HDL-c), triglycerides (TGL), and glycemia. Venous blood samples were collected into EDTA-containing tube after a 12-h overnight fasting period. Laboratory tests were performed following routine clinical analysis with reagents from Boehringer Mannheim (Germany) and were processed in an AutoAnalyzer device (Human GMBH, Germany). The Friedewald equation was used to yield low density lipoprotein cholesterol (LDL-c) estimates [18]. Cases were evaluated as negative or positive to assemble categorical variables for metabolic disorders. Lipid categorization was carried out according to NCEP ATP III [19], so that each woman was identified as a carrier (or not) of mixed hyperlipidemia (CHL-t C 200 mg/dl, LDL-c C 130 mg/dl and/or TGL C 150 mg/dl) or HDL < 50 mg/dl. Current use of antilipidemic drugs was considered in the definition of hyperlipidemia. Type 2 diabetes was defined according to reference values established by the American Diabetes Association (fasting glycemia C 126 mg/dl) [20] or current use of oral hypoglycemic drugs or insulin. Systolic and diastolic arterial blood pressure was measured as recommended by the VI Brazilian Guidelines for Arterial Hypertension [21]. Patients with systolic arterial blood pressure C140 mmHg and/or diastolic arterial blood pressure C90 mmHg were classified as hypertensive, as well as those regularly taking antihypertensive drugs.

### Dietary evaluation

The present study evaluated the usual consumption of macronutrients by elderly women. To evaluate dietary consumption, a non-consecutive three-day dietary record was completed, including 1 weekend day. To fill out the forms correctly, each patient received information from trained dietitians on the number and sizes of servings. To improve reliability of the data, patients were assessed with a validated Brazilian Portuguese version of the Mini-Mental State Examination [22]. Subjects assumed to be

cognitively impaired were excluded from the study, according to the following cut-off scores:  $\leq 11$  if illiterate,  $\leq 17$  for those with  $\leq 8$  years of schooling, and  $\leq 25$  for those with  $\leq 8$  years of schooling [23], regardless of age strata. Whenever an illiterate or poorly literate older woman was illegible, she was asked to refer to a household akin or community acquaintance to assist with the filling out of the registry. To improve the completion of the dietary record in all cases, the staff of dieticians provided either personal or telephone assistance regularly.

Seven to ten days after being distributed, the forms were returned by patients during their first, subsequent office visit, scheduled to check the accuracy of the records and complete lacking information. Analysis of nutrient composition was carried out with Diet Pro software, version 4.0 (A.S. Sistemas, Brazil), adjusted for all available databases and complemented with a chemical composition table for Brazilian food [24]. Subjects whose records indicated use of macronutrient-containing supplementary stuffs were excluded from the study.

After entry of dietary data, absolute intakes (mg) of carbohydrates, protein and lipids were individually calculated. Absolute intakes were converted into relative calories from these macronutrients in relation to total dietary calories. Also, percent calories from polyunsaturated fatty acids (PUFA), monounsaturated (MUFA) and saturated fatty acids (SFA) were determined. Total energy intake and all macronutrient assessments were determined as the mean daily intake based on the 3-day dietary records.

#### Cytokine quantification

For the interleukin (IL) analyses, seven important inflammatory mediators were selected for assessment, as follows: IL1<sub>a</sub>, IL1<sub>b</sub>, IL6, IL8, IL10, IL-12 (p70), and TNF<sub>a</sub>. Whole blood was collected into endotoxin-free tubes. Serum was separated from whole blood, stored in aliquots at -80 °C and analyzed in batches using specific enzyme-linked immunosorbent assay kits (BioLegend, Inc, San Diego, CA, USA). Sample quantification was processed in duplicate.

#### Statistical analysis

To address the aim of this study, logarithmic transformations were applied to all cytokine values as they were positively skewed, and the association of log-transformed cytokine concentrations with the raw levels of macronutrient intake was evaluated using the Pearson's correlation test. Before that, the same test was used to obtain correlation coefficients between cytokines and other continuous traits (age, BMI, fat and fat-free masses, total calorie intake) of potential confounding effect. Also, log-

transformed cytokine concentrations were tested across carriers and non-carriers of mixed hypercholesterolemia, HDL  $\leq 50$  mg/dl, systemic arterial hypertension and type 2 diabetes using the Student t test to reveal interference of these metabolic conditions. Whenever an interaction was noticed, partial correlation analyses were run using adjustment for the confounding variable(s) or condition(s). For the correlation analyses, the Bonferroni correction principle for multiple testing of one same dependent variable across several (k) independent traits was applied (e.g., if  $k = 10$  and  $\alpha = 5\%$ , differences were rendered significant when  $p \leq 0.005$ ).

The association between titers of circulating cytokine with intake of specific macronutrients was further analyzed segregating subjects according to tertiles of usual intake found in the sample and using analysis of variance to compare the log-transformed concentrations across intervals. For ANOVA analyses, significance was set at  $p \leq 0.05$ . All analyses were performed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (version 17.0).

#### Results

Data from 229 elderly women turned out to be eligible for analysis, according to inclusion/exclusion criteria and completeness of the cognitive, dietary, clinical and laboratory evaluations performed at baseline. On what concerns schooling, 17.0 % declared to have a minimum of or more than 8 years of formal education, whereas 61.1 % exhibited an incomplete basic educational cycle ( $\leq 8$  years) or no formal education at all (21.9 %). The women participants had a mean age of 68.1 years (SD = 6.1 years) and a high prevalence of metabolic disorders. Table 1 summarizes the clinical and metabolic information of the participants included in the analyses.

The distribution of all interleukin titers in these elderly patients was non-gaussian, but reasonably well normalized (skewness  $\leq 1$ ) by a  $\log_{10}$  transformation. Initial evaluation of potential confounding factors revealed that the circulating titers of most of the immune mediators investigated showed a significant correlation (or an important trend towards a correlation) with the total calorie count from the individual's usual dietary intake ( $\log_{10}$ IL1<sub>a</sub>:  $r = 0.166$ ,  $p = 0.008$ ;  $\log_{10}$ IL6:  $r = -0.213$ ,  $p = 0.001$ ;  $\log_{10}$ IL8:  $r = 0.182$ ,  $p = 0.006$ ;  $\log_{10}$ IL10:  $r = 0.214$ ,  $p = 0.001$ ;  $\log_{10}$ IL12:  $r = 0.223$ ,  $p = 0.001$ ). Moreover, comparison of the log-transformed circulating titers across carriers and non-carriers of common clinical/metabolic disorders in older adults also showed a context-sensitive expression of these mediators, with emphasis to the 5.6 and 2.6 fold higher values, respectively, for IL1<sub>a</sub> ( $F = 23.35$ ,

Table 1 Clinical and nutritional features of the sample

Variables	Measures (n = 229)
Age (years)	68.1 ± 6.1
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.4 ± 4.4
Fat tissue (%)	37.6 ± 6.7
Soft fat-free tissue (%)	59.0 ± 6.4
Systemic hypertension (%)	85.2
Mixed hyperlipidemia (%)	43.7
HDL < 50 mg/dl (%)	24.9
Type2 diabetes (%)	17.5
Calorie intake (10 <sup>3</sup> kcal)	2.09 ± 0.54
Total protein intake (%)	15.0 ± 3.4
Total carbohydrate intake (%)	50.2 ± 6.5
Total lipid intake (%)	34.9 ± 5.6
Polysaturated fatty acid intake (%)	1.07 ± 1.16
Monosaturated fatty acid intake (%)	3.08 ± 2.99
Saturated fatty acid intake (%)	2.74 ± 2.73
Total cholesterol intake (mg)	123.7 ± 123.1

Data expressed as means ± SD or relative frequency

p < 0.001) and TNF<sub>a</sub> (F = 22.38, p = 0.002) in diabetic subjects, the 2.4 fold raise of IL6 (F = 9.57, p = 0.018) in hypertensive individuals, and 2.7 fold more IL12 (F = 28.48, p = 0.008) in subjects with hyperlipidemia.

These findings led us to adopt the standard procedure of adjusting all forthcoming partial correlation tests to absolute energy intake along with additional adjustment to any particular clinical/metabolic disorder in strict interaction with the mediator (e.g.: presence (1) or absence (0) of type 2 diabetes used as co-variable in IL1<sub>a</sub>-related correlation tests).

On what concerns the main purpose of this study, the Pearson correlation coefficient of log<sub>10</sub>-transformed IL8 titers associated positively with intake of total cholesterol (r = 0.223; p = 0.001) in the older women investigated (Table 2). In addition, the same mediator showed a trend toward an additional, independent association with intake levels of saturated fatty acids (r = 0.173; p = 0.009). The assumption of meaningful associations was reinforced by direct comparison of log<sub>10</sub>-transformed titers of IL-8 across subjects grouped in tertiles of saturated fatty acids and cholesterol intake (Fig. 1), which revealed mean circulating titers of IL8 found to be 1.9 (p = 0.001) and 1.8 fold higher (p = 0.002) in the third compared to the first tertile of intake of these nutrients, respectively. Complementarily, it is important to notice that titers of all the others inflammatory mediators investigated (IL1<sub>a</sub>, IL1<sub>b</sub>, IL6, IL10, IL12 and TNF<sub>a</sub>) displayed no significant association with any of the macronutrients investigated in our setting, regardless of adjustment (or not) for confounding factors.

Table 2 Correlation analysis between the log<sub>10</sub>-transformed levels of serum cytokines and the estimated usual dietary intake of the 229 post-menopausal women investigated

Variables	Immune mediators						
	Log IL1 <sub>a</sub> <sup>&lt;</sup>	Log IL1 <sub>b</sub>	Log IL6	Log IL8	Log IL10	Log IL12 <sup>¥</sup>	Log TNF <sub>a</sub> <sup>&lt;</sup>
Total carbohydrate intake (%)	-0.002; 0.974	0.010; 0.880	-0.134; 0.044	0.061; 0.359	0.063; 0.346	-0.062; 0.350	-0.066; 0.326
Total lipid intake (%)	0.022; 0.742	0.000; 0.995	0.110; 0.098	-0.103; 0.122	-0.034; 0.611	0.045; 0.499	0.006; 0.932
Total protein intake (%)	-0.050; 0.450	-0.049; 0.462	0.053; 0.423	0.023; 0.731	-0.056; 0.400	0.023; 0.735	0.093; 0.162
Polyunsaturated fatty acid intake (%)	0.009; 0.898	-0.068; 0.307	0.015; 0.822	0.077; 0.248	0.033; 0.622	0.029; 0.666	-0.108; 0.105
Monounsaturated fatty acid intake (%)	-0.031; 0.644	-0.090; 0.176	0.030; 0.652	0.150; 0.024	0.073; 0.275	0.094; 0.156	-0.106; 0.110
Saturated fatty acid intake (%)	-0.030; 0.656	-0.099; 0.137	0.014; 0.829	0.173; 0.009	0.073; 0.274	0.105; 0.114	-0.097; 0.145
P:S fatty acid intake ratio	-0.004; 0.955	0.022; 0.746	-0.002; 0.982	-0.025; 0.704	-0.057; 0.395	-0.044; 0.509	-0.040; 0.545
M:S fatty acid intake ratio	-0.004; 0.949	-0.005; 0.940	-0.015; 0.817	0.006; 0.933	-0.033; 0.618	-0.061; 0.360	-0.034; 0.614
P:M fatty acid intake ratio	0.050; 0.452	0.105; 114	-0.038; 0.565	-0.134; 0.043	-0.016; 0.815	-0.032; 0.629	-0.045; 0.496
Total cholesterol intake (mg)	0.066; 0.324	-0.004; 0.954	0.031; 0.640	0.223; 0.001	0.015; 0.818	0.091; 0.173	-0.119; 0.072

Data are expressed in correlation index and significance level (r; p). The Pearson's correlation test was used with standard adjustment to total calorie intake. Particular adjustments were as follows: <sup><</sup> for type 2 diabetes; for systemic hypertension; <sup>¥</sup> for mixed hyperlipidemia. Log logarithmically transformed data, P:S polyunsaturated to saturated, M:S monounsaturated to saturated, P:M polyunsaturated to monounsaturated

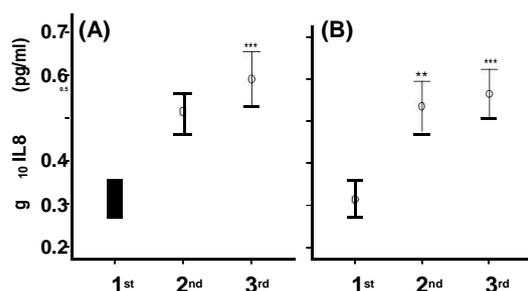


Fig. 1 Comparison of log-transformed circulating levels of IL8 across the individuals grouped in increasing tertiles of usual dietary intake of a saturated fatty acids and b cholesterol. Significance was verified by ANOVA without adjustments: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.005$  in comparison to the 1st tertile. Vertical bars represent intervals of one standard error

Also noteworthy, protein and glycemic intakes were nutritional features that did not correlate with any of the inflammatory mediators.

## Discussion

The main finding of this study was the association between circulating levels of an important mediator of the inflammaging process with the regular, daily intake of macronutrients by elderly women in a context of primary prevention for atherosclerotic diseases. The scientific literature lacks studies that analyze the interplay of these aspects, especially in age-specific strata. But a positive correlation between circulating levels of IL8 and a pro-atherosclerotic lipemic profile cannot be considered entirely new. This phenomena were observed, for instance, in the evaluation of the inflammatory response after ingestion of highly caloric meal (high fat content) in European young men, which showed an increase in plasma IL-8 concentrations [25]. Titers of IL-8 as well as of other immune mediators related to the inflammaging process have proven to differ between individuals according to health status, tending to be increased among carriers of chronic conditions [26]. In regard to this, we understand that our report poses a contribution by duly controlling our analyses for the presence of the most frequent, inflammation-boosted aging disorders (type 2 diabetes, systemic arterial hypertension and hyperlipidemia). Consistent with this effort of achieving adjusted results in a scenario of complex interactions, all analyses were also controlled for total calorie intake. Taking these procedures into account, the authors believe that the relations described herein were not biased by deviation in common metabolic traits. Also worth noting is the possible effect on our results of the

well-known multiethnic structure of the Brazilian population [27]. Despite the racial background of the older women was not considered herein, the authors believe that an influence (if any) from this aspect might have been neglectable since current literature lacks evidence for dis-parities on usual dietary pattern across urban Brazilians from different ethnic groups [28–30].

IL8 is involved in the activation and recruitment of neutrophils [31] and stimulates monocyte adhesion to vascular endothelium [32]. It is known that a reservoir of IL8 is usually present within healthy endothelial cells as vesicles called Weibel-Palade bodies (cWP). Since certain long aliphatic chain fatty acids stimulate the secretion of cWP [33, 34], it is not surprising that variability in natural intake of saturated fatty acids might alter circulating IL-8 levels in everyday settings. Although this mechanism is not fully understood, it is known that the secretion mechanism of these bodies involves activation of receptors coupled to the G protein, resulting in AMPc formation and elevation of intracellular  $Ca^{2+}$  levels [35].

MCP1 (monocyte chemoattractant protein-1), another chemokine belonging to the same family of IL8 (CXC), is also known to regulate the migration and infiltration of monocytes/macrophages [36], and is also more abundant in the circulation of individuals exhibiting richer postprandial levels in saturated fat [37]. It is known that saturated fatty acids (but not unsaturated) can induce Toll-like receptors-dependent pathways and drive expression of the NF-kappaB transcription factor [38], which is involved in MCP1 and IL8 regulation [39]. Chylomicrons and their remnants can suppress the NF-kappaB activity when loaded with unsaturated fats, since a higher proportion of unsaturation promotes lower activation of the transcriptional factor [40]. Despite the lack of conclusive experiments, the importance of the role of NF-kappaB to the functionality of the vascular endothelium is widely known and it is presumed that a phenomenon similar to that described above occurs to express IL8 in endothelial cells, since both the MCP1 and IL8 genes are regulated in a similar manner.

## Conclusion

Higher intakes of total cholesterol and of saturated fatty acids seem to be correlated with augmented circulating levels of IL8. Other immune mediators have not shown to correlate with any of the intakes analyzed in our setting. Despite no causal relationship can be drawn, our finding is suggestive of a mechanism by which this rather pro-atherogenic intake pattern may increase the onset risk of age-related chronic diseases by a contribution from sub-clinical systemic inflammation. Further studies are needed to understand the mechanisms involved in the

pathophysiological/metabolic processes by which nutrition modulate chronic diseases, especially in the elderly.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest No potential conflicts of interest exist.

Ethical approval Study in accordance with the Declaration of Helsinki, with approval by the Institutional Review Board (UCB) approved the study.

Informed consent Informed written consent obtained from each participant.

Funding This work has been supported by a grant from FAPDF (#193.000.032-2012) and a fellowship for productivity in research from CNPq (#310157/2012-9) to O.T. Nóbrega.

Disclaimer The authors declare minor self-plagiarism by reusing elements from published work of our own to help describing the sample and methods, being provided appropriate reference.

## References

- Nóbrega OT, Faleiros VP, Telles JL (2009) Gerontology in the developing Brazil: achievements and challenges in public policies. *Geriatr Gerontol Int* 9:135–139
- Franceschi C, Bonafe M, Valensin S et al (2000) Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci* 908:244–254
- Camacho CRC, Melicio LAD, Soares AMVdC. Aterosclerose, uma resposta inflamatória. *Arquivos de Ciências da Saúde* 2007; 14:41-48
- Hansson GK (2005) Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352:1685–1695
- Geraldo JM (2008) Alfnas RC [Role of diet on chronic inflammation prevention and control—current evidences]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 52:951–967
- Fung TT, McCullough ML, Newby PK et al (2005) Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr* 82:163–173
- Haines PS, Siega-Riz AM, Popkin BM (1999) The Diet Quality Index revised: a measurement instrument for populations. *J Am Diet Assoc* 99:697–704
- McCullough ML, Feskanich D, Rimm EB et al (2000) Adherence to the Dietary Guidelines for Americans and risk of major chronic disease in men. *Am J Clin Nutr* 72:1223–1231
- Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D et al (2003) Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med* 348:2599–2608
- Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML et al (1995) Diet and overall survival in elderly people. *BMJ* 311:1457–1460
- Geraldo JM (2008) Alfnas Rde C [Role of diet on chronic inflammation prevention and control—current evidences]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 52:951–967
- Pischon T, Girman CJ, Rifai N et al (2005) Association between dietary factors and plasma adiponectin concentrations in men. *Am J Clin Nutr* 81:780–786
- Shikany JM, Phadke RP, Redden DT et al (2009) Effects of low- and high-glycemic index/glycemic load diets on coronary heart disease risk factors in overweight/obese men. *Metabolism* 58:1793–1801
- Hilpert KF, Kris-Etherton PM, West SG (2005) Lipid response to a low-fat diet with or without soy is modified by C-reactive protein status in moderately hypercholesterolemic adults. *J Nutr* 135:1075–1079
- Jenkins DJ, Kendall CW, Connelly PW et al (2002) Effects of high- and low-isoflavone (phytoestrogen) soy foods on inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. *Metabolism* 51:919–924
- Wells BJ, Mainous AG 3rd, Everett CJ (2005) Association between dietary arginine and C-reactive protein. *Nutrition* 21:125–130
- Nappo F, Esposito K, Cioffi M et al (2002) Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol* 39:1145–1150
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18:499–502
- Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of (2001) High blood cholesterol in adults. 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). *JAMA* 285:2486–2497
- American Diabetes Association (2011) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 34(Suppl 1):S62–S69
- Sociedade Brasileira de Cardiologia (2010) VI Brazilian Guide-lines on Hypertension. *Arq Bras Cardiol* 95:1–51
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189–198
- Castro-Costa E, Fuzikawa C, Uchoa E et al (2008) Norms for the Mini-Mental State Examination: adjustment of the cut-off point in population-based studies (evidences from the Bambuí health aging study). *Arq Neuropsiquiatr* 66:524–528
- Philippi ST (2002) Tabela de composição dos alimentos: suporte para decisão nutricional, 2nd edn. Corona, São Paulo/Brasil
- Esser D, Oosterink E, Oort Roodt J et al (2013) Vascular and inflammatory high fat meal responses in young healthy men; a discriminative role of IL-8 observed in a randomized trial. *PLoS One* 8:e53474
- Pires AS, Souza VC, Paula RS et al (2015) Pro-inflammatory cytokines correlate with classical risk factors for atherosclerosis in the admixed Brazilian older women. *Arch Gerontol Geriatr* 60:142–146
- Lins TC, Pires AS, Paula RS et al (2012) Association of serum lipid components and obesity with genetic ancestry in an admixed population of elderly women. *Genet Mol Biol* 35:575–582
- Jaime PC (2006) Latorre Mdo R, Florindo AA, Tanaka T, Zerbini CA. Dietary intake of Brazilian black and white men and its relationship to the bone mineral density of the femoral neck. *Sao Paulo medical journal = Rev Paul Med* 124:267–270
- Souza RA, Yokoo EM, Sichieri R et al (2015) Energy and macronutrient intakes in Brazil: results of the first nationwide individual dietary survey. *Public Health Nutr* 1–10. doi:10.1017/S1368980015000750
- Nóbrega OT, Paula RS, Silveira SR et al (2012) Usual dietary intake and cardiovascular risk factors in older Brazilian women. *Aging Clin Exp Res* 24:669–674
- Baggiolini M, Moser B, Clark-Lewis I (1994) Interleukin-8 and related chemotactic cytokines. The Giles Filley Lecture. *Chest* 105:95S–98S
- Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC et al (1999) MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature* 398:718–723

33. Bhatia R, Matsushita K, Yamakuchi M et al (2004) Ceramide triggers Weibel-Palade body exocytosis. *Circ Res* 95:319–324
34. Matsushita K, Morrell CN, Lowenstein CJ (2004) Sphingosine 1-phosphate activates Weibel-Palade body exocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:11483–11487
35. Vischer UM, Barth H, Wollheim CB (2000) Regulated von Willebrand factor secretion is associated with agonist-specific patterns of cytoskeletal remodeling in cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:883–891
36. Charo IF, Ransohoff RM (2006) The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med* 354:610–621
37. Napolitano M, Botham KM, Bravo E (2013) Postprandial human triglyceride-rich lipoproteins increase chemoattractant protein secretion in human macrophages. *Cytokine* 63:18–26
38. Lee JY, Plakidas A, Lee WH et al (2003) Differential modulation of Toll-like receptors by fatty acids: preferential inhibition by n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res* 44:479–486
39. Ueda A, Okuda K, Ohno S et al (1994) NF-kappa B and Sp1 regulate transcription of the human monocyte chemoattractant protein-1 gene. *J Immunol* 153:2052–2063
40. De Pascale C, Graham V, Wheeler-Jones RC et al (2009) Sup-pression of nuclear factor-kappaB activity in macrophages by chylomicron remnants: modulation by the fatty acid composition of the particles. *FEBS J* 276:5689–5702



Contents lists available at ScienceDirect

Archives of Gerontology and Geriatrics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/archger](http://www.elsevier.com/locate/archger)

## Pro-inflammatory cytokines correlate with classical risk factors for atherosclerosis in the admixed Brazilian older women



Alause Silva Pires<sup>a</sup>, Vinícius Carolino Souza<sup>b</sup>, Roberta Silva Paula<sup>b</sup>,  
Juliana Oliveira Toledo<sup>b</sup>, Túlio Cesar Lins<sup>c</sup>, Clayton Franco Moraes<sup>a,d</sup>,  
Claudio Córdova<sup>a,e</sup>, Rinaldo Wellerson Pereira<sup>c,e,f</sup>, Otávio Toledo Nóbrega<sup>b,g,\*</sup>

<sup>a</sup> Graduation Program in Gerontology, Catholic University of Brasília, Brazil

<sup>b</sup> Graduation Program in Health Sciences, University of Brasília, Brazil

<sup>c</sup> Graduation Program in Molecular Pathology, University of Brasília, Brazil

<sup>d</sup> Geriatrics Service, Hospital of the Catholic University of Brasília, Brazil

<sup>e</sup> Graduation Program in Physical Education, Catholic University of Brasília, Brazil

<sup>f</sup> Graduation Program in Biotechnology, Catholic University of Brasília, Brazil

<sup>g</sup> Graduation Program in Medical Sciences, University of Brasília, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 23 June 2014

Received in revised form 22 September 2014

Accepted 7 October 2014

Available online 16 October 2014

#### Keywords:

Atherosclerosis

Interleukin

Inflammation

Genetic ancestry

Admixture

### ABSTRACT

**Aim:** Measurement of inflammatory markers for risk stratification of vascular disorders has been the focus of numerous investigations worldwide, and usually reveals augmented levels of circulating cytokines/chemokines among carriers of classic risk factors for atherosclerosis. Nonetheless, this low-grade inflammatory milieu detected in aged individuals tends to be influenced by body composition. Moreover, cardiovascular risk factors have a complex genetic etiology, and disregarding the genetic heritage may produce spurious results owing to interethnic differences. In this complex scenario, our study was designed to verify the existence and strength of the association between selected mediators of systemic inflammation and classic risk factors of cardiovascular diseases (CVD).

**Methods:** In a sample of post-menopausal older women, correlation analyses explored the association of circulating levels of IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8, IL10 and IL12 with atherosclerosis-related clinical/metabolic parameters, using age, body mass index (BMI), genetic ancestry estimates as standard correction factors. Further adjustment for use of therapeutic agents was applied when appropriate.

**Results:** Our analyses revealed association of log<sub>10</sub>-transformed IL-12 titers with VLDL-c levels ( $r = .192$ ;  $p = .002$ ) and with SBP ( $r = -.185$ ;  $p = .003$ ), and of log<sub>10</sub>-transformed IL-8 titers with GLY ( $r = .235$ ;  $p < .001$ ).

**Conclusion:** Interpretation to the results account to a possible dysregulation of the PPAR signaling pathway to explain the association of IL12 and VLDL-c, and to IL8-driven mechanisms to promote dysglycemia. No previous report sought to investigate the relationship between this set of inflammatory markers and classic risk factors for atherosclerosis correcting for the heterogeneity in genetic admixture and body composition of Brazilian post-menopausal women.

© 2014 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

CVD have been the leading cause of death for the past 50 years, with emphasis to the atherosclerotic disease (Beaglehole & Bonita, 2008). The search of markers for vascular events in populations of different ethnic backgrounds have been carried

out worldwide, and now a number of classic cardiovascular risk factors can reliably be identified in middle-aged and older adults, such as diminished levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) and augmented levels of VLDL-c, total cholesterol (TC), SBP/DBP and fasting blood sugar (Casiglia & Palatini, 1998). Nonetheless, a body of evidence remains to be built on what concerns the pathophysiological avenues of dysregulation underlying the onset of these classical risk factors, possibly rendering new markers not devised yet. Consequently, to better identify patients at a higher risk for the atherosclerotic disease, the important players need to be established, especially in aged populations and with widespread applicability.

\* Corresponding author at: Graduation Program in Medical Sciences, University Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70910-900 Brasília, DF, Brazil. Tel.: +55 61 3307 2520.

E-mail addresses: [otavionobrega@unb.br](mailto:otavionobrega@unb.br), [nobrega@pq.cnpq.br](mailto:nobrega@pq.cnpq.br) (O.T. Nóbrega).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.archger.2014.10.004>

0167-4943/© 2014 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Measurement of inflammatory markers for risk stratification and prevention of vascular disorders has been the focus of numerous of these investigations (Ridker, Hennekens, Buring, & Rifai, 2000; Ridker, Rifai, Stampfer, & Hennekens, 2000; Skoog et al., 2002; Vasan et al., 2003; Zhou, Shi, Gao, & Shen, 2001), motivated by observations that inflammation is a key process in the pathophysiology of atherosclerosis and development of acute cardiovascular syndromes. Low-grade, nonspecific inflammatory activity (detected as augmented levels of circulating cytokines and chemokines in the blood) is a highly prevalent finding in the aged population affected by one or more chronic disorders (Dhingra et al., 2007). Thus, it is of much relevance to study the systemic levels of important inflammatory mediators in humans that show high metabolic risk.

Most CVD risk factors have a complex genetic and life style etiology. Disregarding the genetic heritage of individuals for instance may produce non-generalizable findings owing to ethnic differences (genetic, social and cultural) in CVD risk (Chaturvedi, McKeigue, & Marmot, 1993; Cruickshank, Cooper, Burnett, MacDuff, & Drubra, 1991; Deo et al., 2009). The Brazilian population presents great heterogeneity as result of interethnic crosses between Iberian Europeans, Sub-Saharan Africans and the Amerindian, native population. While self-reported race/ethnicity is often applied as a surrogate of an individual's ancestry, the use of explicit genetic information by means of informative molecular markers provide a more accurate estimation of genetic heritage (Lins et al., 2011). Moreover, several studies show that circulating levels of cytokines/chemokines are severely influenced by body composition, especially the fat-mass content (Kim et al., 2006; Suarez-Alvarez et al., 2013), and even implicating adipocyte-released mediators in the development of age-related pathologies (Krabbe, Pedersen, & Bruunsgaard, 2004). In this complex scenario, association studies to isolate the involvement of any particular mediator with the highly intercorrelated variety of age- and obesity-related metabolic disorders should take into account proper adjustment to anthropometry and genetic heritage.

The present study was designed to verify the existence and strength of the association between mediators of systemic inflammatory response and classic risk factors of atherosclerotic disease in a sample of asymptomatic, post-menopausal older women with age as well as genetic ancestry and body composition estimates used as correction factors in our analyses. For this study, we chose to investigate immune mediators whose circulating concentrations have been previously reported as significantly increased in subjects with atherosclerotic lesion or due vascular events (Lee, Yen, Pan, & Chau, 1999; Ridker, Hennekens, et al. 2000; Skoog et al., 2002; Tedgui & Mallat, 2006; Vasan et al., 2003) but with which the literature presented fewer association studies in elderly women.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Subjects and study design

This report derives from cross-sectional analyses with data obtained from community-dwelling elderly women of the urban outskirts of the Brazilian Federal District, aged 60 or over and inscribed to undergo health screenings and intervention (medical, nutritional and/or pharmacological) to prevent CVD by means of a cohort work know as Prognosis and Therapeutics in Geriatrics (ProTeGer) in Brasília, Brazil. This city (2.6 million inhabitants) was planned and constructed to bring the administrative capital from the coast to the midwest of Brazil, giving rise to a migration process over the last 50 years. For that reason, the capital's elderly population (200,000 inhabitants) is considered an expression of the genetic diversity of all Brazilian regions (Nobrega, Faleiros, & Telles, 2009). For the present study, we used data from non-institutionalized

consecutive older women aged 60 years or over which have sought the outpatient clinic for preventive care and have never manifested myocardial infarction, stroke or peripheral arterial disease. Additional selection criteria were the absence of autoimmune disease (including rheumatic disorders), chronic or recurrent infections, prior or current neoplastic disease, or use of steroidal or nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the past 30 days.

This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki guidelines on good clinical practices and the Institutional ethical committee approved the study. Participation was voluntary and informed written consent was obtained from each subject. Participants were not on nutritional follow-up nor did they practice regular exercises before the biochemical tests and anthropometric/clinical assessments were performed.

### 2.2. Clinical procedures

Each subject was required to undertake a clinical protocol consisting of biochemistry, anthropometrical and clinical examination for admission in this study. Briefly, blood pressure (mm Hg) was measured after at least 10 min of rest in a sitting position, and was the mean value of a minimum of 2 physician-obtained measurements recorded >3 min apart. BMI (weight (kg)/height (m<sup>2</sup>)) was determined with patient in light clothing and without shoes. Waist circumference (WC; cm) was measured midway between the iliac crest and the lower costal margin. Fat mass (FM; kg) and fat-free mass (kg) were measured using dual-energy X-ray absorptiometer (DXA; Lunar DPX-IQ model, software version 4.7e, Lunar Radiation Corp., Madison, WI, USA) according to standard procedures provided by the manufacturer. Venous blood samples were collected into EDTA-containing tube after a 12 h-overnight fasting period. Laboratory tests were performed following routine, colorimetric enzymatic liquid assays for clinical chemistry with reagents from In Vitro Diagnostica (Brazil) on a Humalyzer 3000 analyzer (Human GmbH, Germany). Serum analyses included fasting serum glucose (mg/dl) and lipid variables [TC, HDL-c and triglycerides (TGLs)] (mg/dl) and Serod<sup>1</sup> calibration sera. VLDL-c was determined by dividing TGL levels by 5, whereas the Friedewald equation was used to yield LDL-c by subtraction of both VLDL-c and HDL-c from TC. Additionally, current use of any drug for hypertension, diabetes and dyslipidemia was included in each medical record and used in the study to control possible pharmacological effects in the analyses.

### 2.3. Genetic ancestry estimates

For individual genetic ancestry estimation, we selected 23 ancestry-informative markers (AIMs) that displayed differential allele frequencies among European, African and Amerindian parental populations (Bonilla et al., 2004; Fernandez et al., 2003; Shriver et al., 2005; Smith et al., 2004). The informativeness of these SNPs has been previously evaluated and used to correct the structure of the Brazilian population in different association studies (Benedet et al., 2012; Moraes et al., 2013; Moreno Lima et al., 2007). The list of AIMs genotyped and the laboratory procedures were exactly as described previously (Lins, Vieira, Abreu, Grattapaglia, & Pereira, 2010).

### 2.4. Cytokine quantification

For the interleukin (IL) analyses, 5 important inflammatory mediators were selected for assessment, as follows: IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8, IL10 and IL12 (p70). Whole blood was collected into endotoxin-free tubes. Serum was separated from whole blood, stored in aliquots at 80 °C and analyzed in batches using specific enzyme-linked immunosorbent assay kits (BioLegend, Inc., San Diego, CA, USA). Samples quantification was processed in duplicate.

## 2.5. Statistical analysis

Logarithmic transformations were applied to all cytokine values as they were positively skewed. Correlation coefficients and statistical significance for univariate analyses were determined using Pearson's linear regression, with all analyses adjusted for the following standard confounding variables: age, BMI and genetic ancestry estimates. Adjustment for therapeutics (use of lipid-lowering, glucose-lowering or antihypertensive agents) was applied in strict correspondence to its metabolic/clinical target (e.g.: use of TGL-lowering drug as co-variable in serum TGL-related correlation tests). To test whether the intercorrelated nature of the parametric variables affected the analyses outputs, a model of multiple, simultaneous correlations were run to test the association between clinical/metabolic parameters and cytokine levels, with all adjustments at once. In either uni- or multivariate protocols, p-value was rendered significant following the Bonferroni principle of correction for multiple tests with the same dependent variable (number of tests = 10;  $\alpha < .005$ ). Analyses were performed using SAS v.9.2 Software (SAS Institute, Inc., 1999).

## 3. Results

The 259 post-menopausal participants had a mean age of 67.9 years (SD = 6.1 years). All continuous traits were normally distributed according to Kolmogorov–Smirnov test. Table 1 summarizes the clinical and metabolic information of all participants included in this study. In this whole group approach, it is noteworthy that most of the mean levels of important clinical and biochemical parameters were found within the range of acceptable [glucose (106.3 mg/dL), HDL-c (59.1 mg/dL), VLDL-c (28.3 mg/dL)] or borderline [TC (226.3 mg/dL), LDL-c (137.3 mg/dL), and TGL (150.0 mg/dL)] according to the NCEP (2001) or the ADA (American Diabetes, 2005) criteria, exception made for the mean systolic (140.9 mm Hg) and DBP (83.2 mm Hg). This scenario is compatible with a status that is expected from patients eligible for primary prevention against cardiovascular events. Users of antihypertensive drugs encompassed the majority ( $n = 169$ ; 65.2%) of the older women investigated, whereas use of antilipemic and hypoglycemic agents occurred in 11.2% ( $n = 29$ ) and 6.9% ( $n = 18$ ) of the sample, respectively. Importantly, neither the metabolite (glycemic and lipemic) levels nor the clinically assessed (arterial pressure and BMI) parameters differed across users and non-users of the respective control-related pharmaceutical products, albeit a non-significant trend for higher systolic pressure among non-users of antihypertensive agents ( $p = .06$ ).

The distribution of all interleukin titers in these elderly patients was non-Gaussian, but reasonably well normalized by a  $\log_{10}$

Table 1  
Clinical and metabolic information of the post-menopausal women.

Variable	Mean	SD
Age (years)	67.9	6.1
BMI ( $\text{kg m}^{-2}$ )	27.5	4.3
WC (cm)	90.5	9.2
Fat mass (kg)	58.8	6.2
Fat-free mass (kg)	37.4	6.5
Glucose level ( $\text{mg dl}^{-1}$ )	106.3	29.4
Total cholesterol ( $\text{mg dl}^{-1}$ )	226.3	45.8
VLDL-c ( $\text{mg dl}^{-1}$ )	28.3	12.4
HDL-c ( $\text{mg dl}^{-1}$ )	59.1	10.5
LDL-c ( $\text{mg dl}^{-1}$ )	137.3	39.8
Triglycerides ( $\text{mg dl}^{-1}$ )	150.0	91.2
SBP (mm Hg)	140.9	25.5
DBP (mm Hg)	83.2	14.6

LDL-c, low density lipoprotein cholesterol.

transformation. In univariate analyses, the Pearson correlation coefficient of  $\log_{10}$ -transformed IL-12 titers with VLDL-c revealed a positive association between traits ( $r = .192$ ;  $p = .002$ ) (Table 2). Also,  $\log_{10}$ -transformed IL-12 titers were negatively associated with systolic blood ( $r = .185$ ;  $p = .003$ ). These analyses indicate relatively weak, yet significant association between IL-12 levels and important, classic risk factors for CVD regardless of common confounders in immunogerontological studies (age, anthropometry, use of therapeutic agents) and influence owing to genetic heterogeneity (admixed ancestry composition). Additionally, and adjusted for the same confounders/influence,  $\log_{10}$ -transformed IL-8 associated positively with GLY ( $r = .235$ ;  $p < .001$ ) in the older women investigated. Complementarily, it is important to notice that titers of the inflammatory mediators IL1a, IL1b and IL10 displayed no significant association with any of the clinical/biochemical traits investigated in our setting. Also, lipemic traits as relevant as TC, LDL-c, HDL-c and TGLs did not correlate with any inflammatory mediator. Following these univariate analyses, a model based on multiple, simultaneous correlations was performed to test whether the interplay among health parameters (VLDL-c, LDL-c, HDL-c, TC, glucose, BMI, blood pressure) would alter the outputs, but no interactions observed among clinical and/or metabolic variables altered the results obtained from the univariate procedures.

## 4. Discussion

Titers of IL-8 and IL-12 have been suggested to differ in human subjects according to body composition, tending toward an increase from eutrophic to overweight to obese humans (Kim et al., 2006; Suarez-Alvarez et al., 2013). In this scenario, it would be difficult to isolate the involvement of any marker/mediator with the spectrum of obesity-related traits of the aging process without proper adjustment to anthropometry. In this respect, our report tends to pose a contribution by duly controlling the analyses with the most common indicator of body composition available (BMI). We believe that due correction was achieved since no association between interleukins and other variables representative of body composition (WC, FM) could be devised. In line with our effort to obtain adjusted results in this scenario of complex interactions, analyses were controlled for use of antilipemic, antidiabetic and antihypertensive agents. Based on this procedure and in the fact that parametric tests failed to reveal any quantitative variances in clinical/metabolic parameters across users and non-users of drug classes, we do not believe that the associations observed herein were biased by medicaments. It should also be considered that the clinical use of molecular markers may not be straightforward across populations given the distinct frequencies of metabolic disorders across human groups of different ethnic backgrounds (Deurenberg, Yap, & van Staveren, 1998; Lins et al., 2012; Wulan, Westertep, & Plasqui, 2010). So, our work benefits from this additional advantage, achieved by the availability in database of genetic ancestry estimates for each individual admitted for analysis herein.

IL-12 is an important member of the Th1 cytokine pathway, by inducing differentiation of type 1 T cells (Trinchieri, 2003). Evidence suggests that IL-12 contributes to the systemic, low-grade inflammation inherent to the aging process (named inflammaging) and concomitant onset of age-related metabolic disorders as the atherosclerotic phenotypes (Tedgui & Mallat, 2006). In our setting, circulating levels of IL-12 showed a positive relationship with serum VLDL-c, one of the key factors to the development of atherosclerotic disorders. To understand the association of the pleiotropic IL-12 with this lipemic trait, one should remember that the expression of proinflammatory mediators and the de novo biosynthesis of cholesterol are both regulated by the same family of transcription factors entitled peroxisome proliferator-activated

Table 2  
Correlation analysis between levels of serum cytokines and clinical/biochemical parameters in the post-menopausal women.

	Clinical				Biochemical					
	WC	FM	SBP	DBP	TC	VLDL-c	LDL-c	HDL-c	TGL	GLY
Log IL1a	.062; .319	.051; .443	.141; .025	.078; .218	.001; .986	.007; .911	.080; .201	.026; .680	.040; .526	.040; .520
Log IL1b	.076; .224	.089; .204	.046; .462	.028; .651	.019; .766	.026; .678	.001; .986	.071; .257	.071; .261	.032; .614
Log IL8	.024; .706	.041; .630	.053; .400	.105; .096	.004; .943	.037; .557	.056; .376	.013; .831	.125; .046	.235; .000
Log IL10	.115; .065	.137; .033	.051; .418	.011; .860	.040; .524	.090; .153	.081; .196	.008; .901	.149; .018	.118; .061
Log IL12	.021; .737	.015; .791	.185; .003	.156; .012	.012; .845	.192; .002	.048; .450	.161; .010	.058; .354	.014; .824

The Pearson's correlation test was used. Data are expressed in correlation index and significance level ( $r$ ;  $p$ ). Log, logarithmically transformed data.

receptors (PPARs), members of the superfamily of nuclear-acting hormone receptors (da Rocha Junior et al., 2013). Active PPARs hamper the expression of several proinflammatory genes by the up-regulation of cytoplasmic I $\kappa$ B (Vanden Berghe et al., 2003). In parallel, PPARs down-regulate a network of genes that promote cholesterol absorption and endogenous biosynthesis, the major mechanism mediating their known lipid lowering effects (Li & Chiang, 2009). Therefore, it does not surprise that VLDL-c and IL-12 levels vary correspondingly, and we propose that deficiency in PPAR-triggered pathways may induce unfavorable metabolic and immunological scenarios in aged individuals, possibly dyslipidemia and inflammaging, for instance. Another interesting finding in this work was the counterintuitive, negative relationship between IL-12 and SBP, to which the authors elaborated no satisfying explanation. Essential hypertension is a complex but common disease and therefore is thought to have a multifactorial origin with a unifying outcome. Studies suggest that sub-clinical inflammation plays a role in the genesis of hypertension with participation of some cytokines with proven pro-inflammatory action (Granger, 2006; Vanhala, Kautiainen, & Kumpusalo, 2008). Despite our result points out otherwise, we would rather not to confront the major body of evidence in favor of a positive association between an inflammatory status and systemic hypertension, and are prone to interpret our finding as limited evidence for such a link but probably biased by counter-regulatory mechanisms in place or by a spectrum of other cytokines expressed but not investigated herein.

In turn, IL-8 is a chemokine with a pivotal role in enhancing adhesion between leukocytes and vascular endothelial cells, whose expression produces infiltration of leukocytes into sub-endothelial areas. The elevation of certain chemokines is often observed in inflammatory conditions of the circulatory system, as in the atherosclerotic lesion for instance (Surmi & Hasty, 2010). The fact that these mediators are known to increase in obesity also justifies the methodological care of adjusting associations to BMI. In our conditions, IL-8 titers were positively correlated to the GLY levels of our older subjects, supporting the long-standing notion that this chemokine associates (and possibly contributes actively) with an insulin resistance-prone condition (Kim et al., 2006; Zozulinska, Majchrzak, Sobieska, Wiktorowicz, & Wierusz-Wysocka, 1999). Being the insulin signaling network dependent on the phosphorylation on Tyr residues of several intracellular insulin receptor substrate (IRS) proteins, the insulin-signaling cascade is negatively regulated by protein phosphatases (Nieto-Vazquez et al., 2008). Cells exposed to TNF- $\alpha$  have their insulin-signaling pathway down-regulated by phosphatase-mediated dephosphorylation of IRSs as well as by Ser-phosphorylation of these transducers, which converts IRS proteins into inhibitors of the Tyr-kinase activity (Hotamisligil, 2003). In this scenario, it is reasonable that IL-8-driven macrophage infiltration into adipose tissue (regardless to the amount of fat accumulation) can in turn trigger secretion of a variety of adipokines (most notably TNF- $\alpha$ ) that may further promote a local inflammatory response and result in systemic dysglycemia according to the mechanism described

(Tourniaire et al., 2013). Nonetheless, the endogenous and life style modulators of IL-8 expression remain to be determined.

It is important to have in mind that our interpretation of the literature revised herein do not allow placing the immune mediators IL-8 and IL-12 as central, ultimate effector elements in the onset of the traits to which they have been associated. Such caution derives from realizing that the whole system of immune inter-cellular signaling is much too complex, with mediators usually having additive, counteracting or context-sensitive properties in their mode of action. Also, the cross-sectional design of the study prevents establishing a causal relationship, and other modulatory mechanisms apart from those hypothesized could be in place.

Despite all methodological care, our study has potential limitations. We did not evaluate the usual dietary intake or hormonal aspects of the older women in our sample, which could confound the observed associations. Other limitation was that assessing other cytokines or chemokines was beyond the original scope of this study. To the best of authors' knowledge, no previous report sought to investigate the relationship between this number of inflammatory markers and classic risk factors for atherosclerosis in the context of (and correcting for) the heterogeneity in genetic admixture and body composition of Brazilian post-menopausal women.

## 5. Conclusion

All in all, our results reveal that circulating concentrations of IL-8 and IL-12 increase along with important vascular threatening traits as fasting serum glucose and VLDL-c, respectively, regardless of age, ethnic background, BMI strata or use of therapeutic drugs. Elucidating the mechanisms by which immune mediators interact directly or not with energy metabolites is key to obtaining a better understanding on the endocrine effects of the immune response in the aging organism and is likely to provide opportunities for developing novel therapeutic strategies for atherosclerosis.

## Conflict of interest

No potential conflicts of interest exist.

## Author contributions

A.S. Pires and V.C. Souza executed equally the laboratory assessments of the immune mediators studied. R.S. Paula and J.O. Toledo executed the clinical anthropometric and pharmacological assessments, respectively. A.S. Pires and T.C. Lins executed the laboratory assessments of genetic ancestry. C.F. Moraes executed the medical component of the study. C. Co'rdova advised on the statistical analysis and interpretation of results. R.W. Pereira, OT No'brega designed and coordinated the study; analyzed and interpreted the results. A.S. Pires and OT No'brega participated in the preparation of the original manuscript.

## Disclaimer

The authors declare minor self-plagiarism by reusing elements from published work of our own to help describing the sample, being provided appropriate reference.

## Acknowledgements

Research supported by CAPES with a stipend (to Alause S. Pires) and by the CNPq with fellowships for productivity in research (to R.W. Pereira and to O.T. No'brega) and with grant # 484318/2006-3 (to O.T. No'brega).

## References

- American Diabetes, A. (2005). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 28(Suppl. 1), S37L 42.
- Beaglehole, R., & Bonita, R. (2008). Global public health: A scorecard. *Lancet*, 372, 1988–1996.
- Benedet, A. L., Moraes, C. F., Camargos, E. F., Oliveira, L. F., Souza, V. C., Lins, T. C., et al. (2012). Amerindian genetic ancestry protects against Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 33, 311–317.
- Bonilla, C., Parra, E. J., Pfaff, C. L., Dios, S., Marshall, J. A., Hamman, R. F., et al. (2004). Admixture in the Hispanics of the San Luis Valley, Colorado, and its implications for complex trait gene mapping. *Annals of Human Genetics*, 68, 139–153.
- Casiglia, E., & Palatini, P. (1998). Cardiovascular risk factors in the elderly. *Journal of Human Hypertension*, 12, 575–581.
- Chaturvedi, N., McKeigue, P. M., & Marmot, M. G. (1993). Resting and ambulatory blood pressure differences in Afro-Caribbeans and Europeans. *Hypertension*, 22, 90–96.
- Cruickshank, J. K., Cooper, J., Burnett, M., MacDuff, J., & Drubra, U. (1991). Ethnic differences in fasting plasma C-peptide and insulin in relation to glucose tolerance and blood pressure. *Lancet*, 338, 842–847.
- da Rocha Junior, L. F., Dantas, A. T., Duarte, A. L., de Melo Rego, M. J., Pitta Ida, R., & Pitta, M. G. (2013). PPARgamma agonists in adaptive immunity: What do immune disorders and their models have to tell us? *PPAR Research*, 2013, 519724.
- Deo, R. C., Reich, D., Tandon, A., Akylbekova, E., Patterson, N., Waliszewska, A., et al. (2009). Genetic differences between the determinants of lipid profile phenotypes in African and European Americans: The Jackson Heart Study. *PLoS Genet*, 5, e1000342.
- Deurenberg, P., Yap, M., & van Staveren, W. A. (1998). Body mass index and percent body fat: A meta analysis among different ethnic groups. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 22, 1164–1171.
- Dhingra, R., Gona, P., Nam, B. H., D'Agostino, R. B., Wilson, P. W., Benjamin, E. J., et al. (2007). C-reactive protein, inflammatory conditions, and cardiovascular disease risk. *American Journal of Medicine*, 120, 1054–1062.
- Fernandez, J. R., Shriver, M. D., Beasley, T. M., Raffa-Demetrious, N., Parra, E., Albu, J., et al. (2003). Association of African genetic admixture with resting metabolic rate and obesity among women. *Obesity Research*, 11, 904–911.
- Granger, J. P. (2006). An emerging role for inflammatory cytokines in hypertension. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 290, H923–H924.
- Hotamisligil, G. S. (2003). Inflammatory pathways and insulin action. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 27(Suppl. 3), S53–S55.
- Kim, C. S., Park, H. S., Kawada, T., Kim, J. H., Lim, D., Hubbard, N. E., et al. (2006). Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *International Journal of Obesity (London)*, 30, 1347–1355.
- Krabbe, K. S., Pedersen, S., & Bruunsgaard, H. (2004). Inflammatory mediators in the elderly. *Experimental Gerontology*, 39, 687–699.
- Lee, T. S., Yen, H. C., Pan, C. C., & Chau, L. Y. (1999). The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19, 734–742.
- Li, T., & Chiang, J. Y. (2009). Regulation of bile acid and cholesterol metabolism by PPARs. *PPAR Research*, 2009, 501739.
- Lins, T. C., Pires, A. S., Paula, R. S., Moraes, C. F., Vieira, R. G., Vianna, L. G., et al. (2012). Association of serum lipid components and obesity with genetic ancestry in an admixed population of elderly women. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 575–582.
- Lins, T. C., Vieira, R. G., Abreu, B. S., Gentil, P., Moreno-Lima, R., Oliveira, R. J., et al. (2011). Genetic heterogeneity of self-reported ancestry groups in an admixed Brazilian population. *Journal of Epidemiology*, 21, 240–245.
- Lins, T. C., Vieira, R. G., Abreu, B. S., Grattapaglia, D., & Pereira, R. W. (2010). Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. *American Journal of Human Biology*, 22, 187–192.
- Moraes, C. F., Benedet, A. L., Souza, V. C., Lins, T. C., Camargos, E. F., Naves, J. O., et al. (2013). Cytokine gene polymorphisms and Alzheimer's disease in Brazil. *Neuroimmunomodulation*, 20, 239–246.
- Moreno Lima, R., Silva de Abreu, B., Gentil, P., Cesar de Lima Lins, T., Grattapaglia, D., Pereira, R. W., et al. (2007). Lack of association between vitamin D receptor genotypes and haplotypes with fat-free mass in postmenopausal Brazilian women. *Biological Sciences and Medical Sciences*, 62, 966–972.
- Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the Third Report on the National Cholesterol Education Program (NCEP) (2001). *Journal of the American Medical Association*, 285, 2486–2497.
- Nieto-Vazquez, I., Fernandez-Veledo, S., Kramer, D. K., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L., & Lorenzo, M. (2008). Insulin resistance associated to obesity: The link TNF-alpha. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 114, 183–194.
- Nobrega, O. T., Faleiros, V. P., & Telles, J. L. (2009). Gerontology in the developing Brazil: Achievements and challenges in public policies. *Geriatrics & Gerontology International*, 9, 135–139.
- Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Buring, J. E., & Rifai, N. (2000). C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *New England Journal of Medicine*, 342, 836–843.
- Ridker, P. M., Rifai, N., Stampfer, M. J., & Hennekens, C. H. (2000). Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*, 101, 1767–1772.
- Shriver, M. D., Mei, R., Parra, E. J., Sonpar, V., Halder, I., Tishkoff, S. A., et al. (2005). Large-scale SNP analysis reveals clustered and continuous patterns of human genetic variation. *Human Genomics*, 2, 81–89.
- Skoog, T., Dichtl, W., Boquist, S., Skoglund-Andersson, C., Karpe, F., Tang, R., et al. (2002). Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *European Heart Journal*, 23, 376–383.
- Smith, M. W., Patterson, N., Lautenberger, J. A., Truelove, A. L., McDonald, G. J., Waliszewska, A., et al. (2004). A high-density admixture map for disease gene discovery in African Americans. *American Journal of Human Genetics*, 74, 1001–1013.
- Suarez-Alvarez, K., Solis-Lozano, L., Leon-Cabrera, S., Gonzalez-Chavez, A., Gomez-Hernandez, G., Quinones-Alvarez, M. S., et al. (2013). Serum IL-12 is increased in Mexican obese subjects and associated with low-grade inflammation and obesity-related parameters. *Mediators of Inflammation*, 2013, 967067.
- Surmi, B. K., & Hasty, A. H. (2010). The role of chemokines in recruitment of immune cells to the artery wall and adipose tissue. *Vascular Pharmacology*, 52, 27–36.
- Tedgui, A., & Mallat, Z. (2006). Cytokines in atherosclerosis: Pathogenic and regulatory pathways. *Physiological Reviews*, 86, 515–581.
- Tourniaire, F., Romier-Crouzet, B., Lee, J. H., Marcotorchino, J., Gouranton, E., Salles, J., et al. (2013). Chemokine expression in inflamed adipose tissue is mainly mediated by NF-kappaB. *PLOS ONE*, 8, e66515.
- Trinchieri, G. (2003). Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 3, 133–146.
- Vanden Berghe, W., Vermeulen, L., Delerive, P., De Bosscher, K., Staels, B., & Haegeman, G. (2003). A paradigm for gene regulation: Inflammation, NF-kappaB and PPAR. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 544, 181–196.
- Vanhala, M., Kautiainen, H., & Kumpusalo, K. (2008). Proinflammation and hypertension: A population-based study. *Mediators of Inflammation*, 2008, 1–7.
- Vasan, R. S., Sullivan, L. M., Roubenoff, R., Dinarello, C. A., Harris, T., Benjamin, E. J., et al. (2003). Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: The Framingham Heart Study. *Circulation*, 107, 1486–1491.
- Wulan, S. N., Westertep, K. R., & Plasqui, G. (2010). Ethnic differences in body composition and the associated metabolic profile: A comparative study between Asians and Caucasians. *Maturitas*, 65, 315–319.
- Zhou, R. H., Shi, Q., Gao, H. Q., & Shen, B. J. (2001). Changes in serum interleukin-8 and interleukin-12 levels in patients with ischemic heart disease in a Chinese population. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 8, 30–32.
- Zozulinska, D., Majchrzak, A., Sobieska, M., Wiktorowicz, K., & Wierusz-Wysocka, B. (1999). Serum interleukin-8 level is increased in diabetic patients. *Diabetologia*, 42, 117–118.

## Risco de distúrbio glicêmico em mulheres idosas ajustado por antropometria e genótipos de citocinas

Aparecido Pimentel Ferreira<sup>1</sup>, Cristiane Batisti Ferreira<sup>2</sup>, Vinicius Carolino Souza<sup>3</sup>, Audrey Cecília Tonet Furtoso<sup>4</sup>, Juliana Oliveira Toledo<sup>5</sup>, Clayton Franco Moraes<sup>6</sup>, Cláudio Córdova<sup>7</sup>, Otávio Tolêdo Nóbrega<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Doutor em Educação Física; Professor e Coordenador do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa do ICESP/Faculdades Promove de Brasília; Professor e Líder do Grupo de Estudos em Fisiologia do Exercício e Saúde da Universidade Paulista (UNIP), DF

<sup>2</sup>Graduada em Farmácia; Pesquisadora do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa do ICESP/Faculdades Promove de Brasília, Brasília, DF

<sup>3</sup>Bacharel em Biologia; Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UnB; Técnico do Laboratório de Imunogenética da Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasília, DF

<sup>4</sup>Mestre em Gerontologia, Programa de Pós-graduação em Gerontologia, UCB, e do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF

<sup>5</sup>Mestre em Gerontologia, Programa de Pós-graduação em Gerontologia, UCB; Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UnB; Professora da Faculdade Lourdes Santana – LS, Brasília, DF

<sup>6</sup>Mestre em Gerontologia, Programa de Pós-graduação em Gerontologia, UCB, Brasília, DF

<sup>7</sup>Doutor em Educação Física, Programa de Pós-graduação em Educação Física e Saúde, UCB, Brasília, DF

<sup>8</sup>Doutor em Patologia Molecular, Professor do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UnB, Brasília, DF

Trabalho realizado na  
Universidade Católica de Brasília  
(UCB), Brasília, DF

Artigo recebido: 14/04/2011  
Aceito para publicação: 30/06/2011

Suporte Financeiro:  
CNPq (processos 484318/2006-  
3 e 402699/2007-6), FAPDF  
(processos 193.000.309/2007 e  
193.000.449/2008)

Correspondência para:  
Otávio Tolêdo Nóbrega  
Programa de Pós-graduação  
em Ciências Médicas  
Faculdade de Medicina  
Universidade de Brasília – UnB  
Campus Universitário Darcy  
Ribeiro Asa Norte, Brasília – DF  
Cep: 70910-900 Tel: (61) 3307-  
2520 nobrega@pq.cnpq.br;

otavionobrega@unb.br

Conflito de interesse: Não há.

©2011 Elsevier Editora Ltda.  
Todos os direitos reservados.

### Resumo

**Objetivo:** Analisar a associação da intolerância à glicose e do *diabetes mellitus* tipo 2 com as variações alélicas -174 G > C e -308 G > A de IL-6 e TNF- $\alpha$ , respectivamente, à luz de indicadores antropométricos e faixa etária. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal com dados obtidos de 285 mulheres idosas da comunidade, submetidas a exames físicos, bioquímicos e genéticos. **Resultados:** Análise não ajustada para genótipos revelou que idosas com IMC elevado apresentaram risco 1,71 e 2,82 vezes maior para intolerância à glicose e diabetes, respectivamente, enquanto faixa etária e índice de conicidade não apresentaram qualquer valor preditivo. Razões de prevalência para intolerância à glicose e diabetes conforme variantes alélicas de IL-6 e TNF- $\alpha$  não associam genótipos de IL-6 com desregulação glicêmica, a despeito de ajustes para IMC, idade e índice de conicidade. Por outro lado, portadores do alelo A de TNF- $\alpha$  apresentaram 2,06 e 5,58 vezes mais chance de intolerância à glicose e diabetes, respectivamente, comparadas a homozigotas GG no estrato com IMC  $\leq$  27 kg/m<sup>2</sup>. **Conclusão:** Os resultados sugerem que o alelo A do polimorfismo -308 G > A de TNF- $\alpha$  predispõe a distúrbios do metabolismo glicêmico em mulheres idosas de um modo sensível a medidas antropométricas.

**Unitermos:** Idoso; resistência à insulina; citocinas; polimorfismo genético; antropometria.

### Summary

#### Risk of glycemic disorder in elderly women adjusted by anthropometric parameters and cytokine genotypes

**Objective:** The objective of the present study was to examine the association of glucose intolerance and type-2 *diabetes mellitus* with the -174 G > C and -308 G > A allelic variations of IL-6 and TNF- $\alpha$ , respectively, through anthropometric measurements and age strata. **Methods:** This is a cross-sectional study using data from 285 community dwelling elderly women who underwent physical, biochemical, and genetic examinations. **Results:** Genotype-unadjusted analysis revealed that the risk of glucose intolerance and diabetes in elderly women with elevated BMI was 1.71 and 2.82 times higher, respectively, whereas age and conicity index did not show predictive value. Prevalence ratios for glucose intolerance and diabetes across allelic variants of IL-6 and TNF- $\alpha$  did not associate IL-6 with unbalanced glucose levels, despite adjustment for BMI, age, and conicity index. Conversely, carriers of the TNF- $\alpha$  A allele were 2.06 and 5.58 times more likely to exhibit glucose intolerance and diabetes, respectively, compared to GG homozygotes. **Conclusion:** Our results suggest that bearing the A allele of the -308 G > A polymorphism of TNF- $\alpha$  predisposes to anthropometric measure-sensitive impaired glucose metabolism in older women.

**Keywords:** Elderly health; insulin resistance; cytokines; polymorphism, genetic; anthropometry.



qui-quadrado para identificação das diferenças frequenciais entre estratos. Em seguida, foram determinadas as razões de prevalência (RP) relativas à intolerância à glicose e ao diabetes de forma dicotômica nos estratos eleitos para estudo (estrato inferior = 0 e estrato superior = 1). Adicionalmente, foram criadas variáveis *dummy* para comparação entre estratos assumindo o estrato inferior como grupo de referência (estrato inferior = 0) e os outros estratos de cada variável estudada para os polimorfismos da IL-6 e TNF, sendo IL-6 (GG = 0 e GC e CC = 1), TNF (GA e AA = 0 e GG = 1) e quando analisados os genes conjuntamente (GG para IL-6 e GA e AA para TNF = 0 e as demais combinações = 1). As diferenças foram observadas através do teste de Mantel-Hanzel. Utilizou-se o intervalo de confiança de 95%. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Stata, versão 7.0.

#### Resultados

A Tabela 1 apresenta a caracterização da amostra por meio do perfil etário, antropométrico e de variáveis representativas do metabolismo glicêmico das mulheres idosas que participaram do estudo.

Tabela 1 – Características de base da amostra

Variável	Média ± Desvio-padrão
n (idosas)	285
Idade (anos)	67,8 ± 6,1
Peso (kg)	93,9 ± 10,8
Estatura (m)	1,52 ± 0,10
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,5 ± 4,3
ICo (m)	1,29 ± 0,10
Glicemia (mg.dL <sup>-1</sup> )	106,3 ± 29,4
Intolerância à glicose (%)	27,6
Diabetes (%)	16,8

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade.

Considerando o valor médio exibido pelas variáveis idade, IMC e ICo, decidiu-se pela dicotomização da amostra (idade ≤ 65 anos ou > 65 anos, IMC ≤ 27 kg/m<sup>2</sup> ou > 27 kg/m<sup>2</sup>, índice de conicidade ≤ 1,25 ou > 1,25) para as análises subsequentes. Assim sendo, as estatísticas que comparam a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre os grupos da amostra são apresentadas na Tabela 2. Nesta análise, idade e ICo não apresentaram valor preditivo para intolerância à glicose ou diabetes. Entretanto, o grupo de idosas portadoras de IMC > 27 kg/m<sup>2</sup> apresentou 1,71 e 2,82 vezes mais chances de apresentar intolerância à glicose e diabetes, respectivamente.

Quando analisadas as razões de prevalência para intolerância à glicose e o diabetes, conforme variantes dos genes IL-6 e TNF- $\alpha$ , e ajustadas para IMC, idade e ICo, percebe-se que nenhum genótipo de IL-6 se mostrou *per se* como fator de risco ou proteção para desregulação gli-

cêmica (Tabela 3). Por outro lado, portadores do alelo A de TNF- $\alpha$  apresentaram 2,06 e 5,58 vezes mais chance de apresentar intolerância à glicose e diabetes, respectivamente, quando comparados com homozigotos GG no estrato de pessoas com IMC ≤ 27 kg/m<sup>2</sup> (Tabela 4).

Tabela 2 – Razões de prevalência para intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre mulheres idosas estratificadas por IMC, idade e ICo

Variável (numerador)	Razão de prevalência (IC 95%)	
	Intolerância à glicose	Diabetes
IMC (> 27 kg/m <sup>2</sup> )	1,71 (1,14-2,56) *	2,82 (1,50-5,30) *
Idade (> 65 anos)	1,05 (0,70-1,59)	1,30 (0,71-2,37)
ICo (> 1,25)	1,26 (0,84-1,89)	1,03 (0,61-1,76)

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade; IC, intervalo de confiança; \* p < 0,05 comparado ao grupo com IMC ≤ 27 kg/m<sup>2</sup>.

Tabela 3 – Razões de prevalência para intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre mulheres idosas dicotomizadas pelo polimorfismo -174 G > C de IL-6 em cada faixa etária e antropométrica eleita para estudo

Estrato	Razão de prevalência (IC 95%)	
	Intolerância à glicose	Diabetes
IMC ≤ 27 kg/m <sup>2</sup>	1,17 (0,59-2,34)	1,33 (0,43-4,13)
IMC > 27 kg/m <sup>2</sup>	0,71 (0,43-1,19)	0,64 (0,32-1,24)
Idade ≤ 65 anos	0,64 (0,29-1,39)	0,49 (0,14-1,66)
Idade > 65 anos	0,93 (0,58-1,50)	0,86 (0,45-1,65)
ICo ≤ 1,25	0,86 (0,42-1,80)	0,97 (0,40-2,38)
ICo > 1,25	0,81 (0,49-1,31)	0,62 (0,29-1,31)

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade; IC, intervalo de confiança; nenhuma significância estatística quando homozigotos GG são comparados aos portadores do alelo C.

Tabela 4 – Razões de prevalência para intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 entre mulheres idosas dicotomizadas pelo polimorfismo -308 G > A de TNF- $\alpha$  em cada faixa etária e antropométrica eleita para estudo

Estrato	Razão de prevalência (IC 95%)	
	Intolerância à glicose	Diabetes
IMC ≤ 27 kg/m <sup>2</sup>	2,06 (1,03-4,17)*	5,58 (1,86-16,74)*
IMC > 27 kg/m <sup>2</sup>	0,72 (0,37-1,42)	0,57 (0,22-1,49)
Idade ≤ 65 anos	1,98 (0,96-4,07)	1,87 (0,58-6,00)
Idade > 65 anos	0,84 (0,45-1,55)	1,05 (0,50-2,22)
ICo ≤ 1,25	0,62 (0,21-1,85)	0,59 (0,15-2,36)
ICo > 1,25	1,37 (0,82-2,29)	1,70 (0,84-3,46)

IMC, índice de massa corporal; ICo, índice de conicidade; IC, intervalo de confiança; \* p < 0,05 quando portadores do alelo A são comparados aos do genótipo GG.

### Discussão

No presente estudo, a constatação de intolerância à glicose e do diabetes ocorreu em 27,6 e 16,8% de todos os casos investigados, respectivamente. Verificou-se também que a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes não diferiu entre os estratos criados conforme idade, índice de conicidade ou genótipos de IL-6 ou TNF- $\alpha$ . Todavia, diferiu entre estratos de IMC ( $p = 0,031$ ), tendo a prevalência de intolerância à glicose e do diabetes sido significativamente maior no estrato superior a 27 kg/m<sup>2</sup>. As análises subsequentes foram ajustadas para dirimir a influência da variável IMC, tendo sido observado que as prevalências de intolerância à glicose ou do diabetes não variaram significativamente conforme categoria genotípica de IL-6. Análise semelhante realizada para categorias genotípicas de TNF- $\alpha$  revelou resultado diferente, marcado pelo fato de as portadoras do alelo A de TNF- $\alpha$  terem mais chance de apresentar intolerância à glicose e diabetes. No entanto, esse achado foi observado tão-somente no estrato posicionado abaixo do limiar de estratificação estabelecido para o estudo (IMC < 27 kg/m<sup>2</sup>). Esse resultado provavelmente decorre do efeito de a adiposidade excessiva exceder o de um gene isolado na fisiopatologia da resistência à insulina, mascarando a contribuição do alelo A de TNF- $\alpha$  sobre os distúrbios glicêmicos entre indivíduos com sobrepeso, e tornando-a evidente apenas em estratos de composição corporal tendente à eutrofia<sup>16</sup>.

Todavia, não se pode negar a hipótese de o alelo A de TNF- $\alpha$  ser um fator de explicação nos casos de resistência à insulina e diabetes. Nesse sentido, González-Sanches *et al.*<sup>17</sup>, em um estudo epidemiológico de base populacional, analisaram a interação entre dois genes e alguns fatores de risco cardiovasculares e distúrbios bioquímicos em mais de 800 pacientes caucasianos, com idade entre 35 e 74 anos, e verificaram que o polimorfismo -308 do gene TNF- $\alpha$  pode estar relacionado com maior prevalência de resistência à insulina e a incidência de casos de *diabetes mellitus* tipo 2, independentemente da resistência à insulina, do IMC e da relação cintura-quadril.

Nicaud *et al.*<sup>12</sup> estudaram o papel do polimorfismo -308 A/G do gene TNF- $\alpha$  na resistência à insulina e verificaram a associação ao alelo A com o diabetes tipo 2. Estudos sugerem que o SNP -308 A/G do gene TNF- $\alpha$  relaciona-se com o nível sérico do respectivo mediador pelo fato de o alelo A parecer predisponente a exibir maiores níveis transcricionais do gene, produzindo concentrações séricas aumentadas em comparação com portadores de o alelo G<sup>18,19</sup>. Em conformidade com as evidências de que diferentes fatores de risco cardiovascular (incluindo hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias e resistência à insulina) são intensificados pelos níveis circulantes de TNF- $\alpha$  independentemente do gênero ou estrato etário em estudo<sup>20-23</sup>, o alelo A tem se mostrado mais frequente entre os portadores dos principais distúrbios metabólicos comuns ao idoso<sup>12,16,24</sup>.

A literatura reporta que TNF- $\alpha$  apresenta papel importante na resistência à insulina, interferindo na via de sinalização da insulina<sup>12</sup>. O mecanismo de indução da resistência à insulina por essa citocina provavelmente decorre do fato de TNF- $\alpha$  induzir a fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1), o que diminui sua afinidade ao receptor de insulina, atenuando a transmissão do sinal por comprometer a fosforilação em tirosina do próprio receptor<sup>25-27</sup>. Uma limitação do presente estudo consistiu na impossibilidade de se aferir níveis circulantes dos mediadores inflamatórios estudados. Ademais, a reanálise deste estudo com casuística composta por mulheres idosas implica cautela na extrapolação dos resultados apresentados para outro gênero ou segmento etário.

Em síntese, análise não ajustada para genótipos revelou que idosos com IMC elevado apresentaram risco 1,71 e 2,82 vezes maior para intolerância à glicose e o diabetes, respectivamente, enquanto faixa etária e índice de conicidade não apresentaram qualquer valor preditivo. Para além dessa associação, os resultados do presente artigo sugerem que a presença do alelo A do SNP -308 G > A de

TNF- $\alpha$  *per se* predispõe a ocorrência dos distúrbios glicêmicos de modo sensível ao contexto, tendo em vista que os fenótipos da intolerância à glicose e do diabetes tipo 2 não se mostraram influenciar por quaisquer dos genótipos em estudo entre portadores de IMC compatível com obesidade.

### Agradecimentos

Ao Hospital da Universidade Católica de Brasília e ao Laboratório SABIN, por prover condições ao desenvolvimento do estudo, e à professora Soraia Figueiredo Carmo, pela revisão ortográfica.

### Referências

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. [citado 16 fev 2009]. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao\\_da\\_populacao/piramide/piramide.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/piramide/piramide.shtm).
2. Nobrega OT, Faleiros VP, Telles JL. Gerontology in the developing Brazil: achievements and challenges in public policies. *Geriatr Gerontol Int* 2009;9:135-9.
3. Mathias TA, Jorge MH. Diabetes mellitus na população idosa em municípios da Região Sul do Brasil: um estudo da mortalidade e morbidade hospitalar. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2004;48:505-12.
4. Ferreira AP, Nobrega Ode T, Franca NM. Association of body mass index and insulin resistance with metabolic syndrome in Brazilian children. *Arq Bras Cardiol* 2009;93:147-53.
5. Pitanga FJG, Lessa I. Sensibilidade e especificidade do índice de conicidade como discriminador do risco coronariano de adultos em Salvador, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 2004;7:259-69.
6. Hawley JA, Houmard JA. Introduction-preventing insulin resistance through exercise: a cellular approach. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:1187-90.
7. Ivy JL. Muscle insulin resistance amended with exercise training: role of GLUT4 expression. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:1207-11.
8. Dela F, Ploug T, Handberg A, Petersen LN, Larser JJ, Mikines KJ *et al.* Physical training increases muscle GLUT4 protein and mRNA in patients with NIDDM. *Diabetes* 1994;43:862-5.

9. Beránek M, Kanková K, Benes P, Izakovicová-Hollá L, Znojil V, Hájek D *et al.* Polymorphism R25P in the gene encoding transforming growth factor-beta (TGF-beta1) is a newly identified risk factor for proliferative diabetic retinopathy. *Am J Med Genet* 2002;109:278-83.
10. Huth C, Heid IM, Vollmert C, Gieger D, Grallert H, Wolford JK *et al.* IL6 gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes: joint analysis of individual participants data from 21 studies. *Diabetes* 2006;55:2915-21.
11. Tonet AC, Karnikowski M, Moraes CF, Gomes L, Karnikowski MG, Córdova C *et al.* Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. *Braz J Med Biol Res* 2008;41:47-53.
12. Nicaud V, Raoux S, Poirier O, Cambien F, O'Reilly DS, Tiret L. The TNF alpha/G-308A polymorphism influences insulin sensitivity in offspring of patients with coronary heart disease: the European Atherosclerosis Research Study II. *Atherosclerosis* 2002;161:317-25.
13. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004;27(Suppl 1):S5-S10.
14. Hanley AJ, Karter AJ, Williams K, Festa A, D'Agostino RB Jr, Wagenknecht T *et al.* Prediction of type 2 diabetes mellitus with alternative definitions of the metabolic syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2005;112:3713-21.
15. International Diabetes Federation. 2005. [citado 18 fev 2009]. Disponível em: [http://www.idf.org/metabolic\\_syndrome](http://www.idf.org/metabolic_syndrome).
16. Pihlajamaki J, Ylinen M, Karhapää P, Vauhkonen I, Laakso M. The effect of the -308A allele of the TNF-alpha gene on insulin action is dependent on obesity. *Obes Res* 2003;11:912-7.
17. González-Sánchez JL, Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, Fernández-Pérez C, Laakso M *et al.* Interaction of the -308G/A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha gene with single-nucleotide polymorphism 45 of the adiponectin gene: effect on serum adiponectin concentration in Spanish population. *Clin Chem* 2006;52:97-103.
18. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3195-9.
19. Fernandez-Real JM. Genetic predispositions to low-grade inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2006;8:55-66.
20. Bennet AM, van Maarse MC, Hallqvist J, Morgenstern R, Frostegard J, Wiman B *et al.* Association of TNF-alpha serum levels and TNFA promoter polymorphisms with risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2006;187:408-14.
21. Skoog T, Dichtl W, Boquist S, Skoglund-Andersson C, Karpe F, Tang R *et al.* Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Eur Heart J* 2002;23:376-83.
22. Lechleitner M, Herold M, Dzien-Bischinger C, Hoppichler F, Dzien A. Tumour necrosis factor-alpha plasma levels in elderly patients with Type 2 diabetes mellitus-observations over 2 years. *Diabet Med* 2002;19:949-53.
23. Pickup JC, Chusney GD, Thomas SM, Burt D. Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci* 2000;67:291-300.
24. Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, Mallet C, Arveiler D, Evans A *et al.* Polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha gene, coronary heart disease and obesity. *Eur J Clin Invest* 1998;28:59-66.
25. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91.
26. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996;271:665-8.
27. Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A *et al.* Insulin/IGF-1 and TNF-alpha stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest* 2001;107:181-9.