

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde

**RELAÇÃO DA INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS
COM O ESTRESSE OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO
ARTERIAL**

ELIOELSIO SANTOS GONÇALVES

Sinop, Mato Grosso
Fevereiro, 2024

ELIOELSIO SANTOS GONÇALVES

**RELAÇÃO DA INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS
COM O ESTRESSE OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO
ARTERIAL**

Orientadora: Prof.^a Dr. Gisele Facholi Bomfim

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Saúde.

Sinop, Mato Grosso

Fevereiro, 2024

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

G635r Gonçalves, Elioelsio Santos.

Relação da infecção por citomegalovírus com o estresse oxidativo na hipertensão arterial [recurso eletrônico] / Elioelsio Santos Gonçalves. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 79 f., pdf). -- 2024.

Orientador: Gisele Facholi Bomfim.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde, Sinop, 2024.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

I. Hipertensão arterial; Citomegalovírus; Estresse oxidativo. I. Bomfim, Gisele Facholi, *orientador*. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM SAÚDE
FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Relação da infecção por Citomegalovírus com o estresse oxidativo na hipertensão arterial."

AUTOR (A): MESTRANDO (A) **Eloelsio Santos Gonçalves**

Dissertação defendida e aprovada em **28/02/2024**

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. Presidente Banca Doutor(a) **Gisele Facholi Bomfim**
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
2. Orientador(a) Doutor(a) **Gisele Facholi Bomfim**
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
3. Examinador(a) Externo(a) Doutor(a) **Rinaldo Rodrigues dos Passos Junior**
Instituição : Universidade da Carolina do Sul
4. Examinador(a) Interno(a) Doutor(a) **Júlio Cezar de Oliveira**
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
5. Examinador(a) Suplente Doutor(a) **Fernanda Bruschi Marinho Priviero**
Instituição : Universidade da Carolina do Sul (EUA)
6. Examinador(a) Suplente Doutor(a) **Pamela Alegranci**
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

SINOP, 28/02/2024.



Documento assinado eletronicamente por **GISELE FACHOLI BOMFIM**, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso, em 08/03/2024, às 10:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **JULIO CEZAR DE OLIVEIRA**, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso, em 08/03/2024, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **RINALDO RODRIGUES DOS PASSOS JUNIOR**, Usuário Externo, em 11/03/2024, às 10:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_documento_acesso_externo=0, informando o código verificador **6645433** e o código CRC **6EC7FA3B**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pelo seu cuidado e aprendizado constante, sem sombras de dúvidas tem me mostrado o real propósito neste mundo. Sou eternamente grato, pois você tem sido realmente o meu “Caminho, a Verdade e a Vida” (João 14:6).

Não posso deixar de demonstrar a minha profunda gratidão a minha orientadora, Dra. Gisele F. Bomfim, pelo ser humano que é, pela sua dedicação e por todo o investimento que fez em mim nesses últimos anos. A sua paciência, sabedoria e compreensão foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À minha família, por todos os momentos e cuidados que estiveram comigo, aos meus manos por sempre cuidar tão bem do caçula. A minha tia Joanita, pelas ligações e conselhos essenciais. Em especial à minha mamãe Elda, pois tem sido um dos meus alicerces por ter chegado até aqui, pela sua fé inabalável e sua recuperação tão bem-sucedida nesses últimos seis meses.

Também estendo meus agradecimentos ao coordenador do PPGCS, Dr. Júlio Cezar, pela sua dedicação e disponibilidade que foram de grande ajuda nessa caminhada.

Não posso deixar de mencionar aqueles que estiveram comigo durante a fase da coleta e experimentos. A equipe de Iniciação Científica, Geovana e Gui que foram essenciais durante as visitas das UBS; à Helen, por ter se tornado o meu braço direito nesse projeto, auxiliando na qualidade dos dados coletados, meu eterno carinho a você! Aos técnicos da UFMT, Cleberson pela sua dedicação na pesquisa de campo e a Eriana, por todo seu apoio e carinho nos experimentos.

Também gostaria de agradecer a toda equipe do LIPEC, onde realizamos as análises do estresse oxidativo, à Dra. Valéria Sinhorin e sua equipe de I.C: Ale, Sara, Geo, Simone, João e Yasmin, obrigado por ter proporcionado momentos de trabalho intenso e ao mesmo tempo leve, vou sentir falta das nossas refeições no R.U. Ademais, demonstro minha gratidão a Dra. Roberta Bronzoni, pelo seu tempo e dedicação em busca de alternativas e testes complementares.

É inevitável não citar os 118 voluntários que participaram desta pesquisa, pois sem eles esse projeto não passaria de um simples rascunho numa folha de papel, obrigado!

Durante essa jornada, algumas pessoas estiveram muito presente desde o início e perduraram comigo. Dentre destas, necessito citar o apoio da minha conterrânea Renata Aquino, obrigado amiga! Outra pessoa que sempre esteve lá assistindo os meus ensaios desde a banca

da seleção do mestrado até agora foi a Raissa Tosta, obrigado! Também agradeço pelas orações incessantes da minha amiga de infância Josi, amo você! Também agradeço a minha hermana Raice, você é um ser humano incrível! Ao meu grupo de amigos de viagens (Re, Lu, Ti e Raquel), amo o nosso grupo, fico encantado como nos apoiamos mutuamente.

Além disso, agradeço pelos membros da banca da qualificação, Dra. Eveline Queiroz e Dr. Rinaldo dos Passos, pelas suas sugestões que enriqueceram este trabalho.

Por fim, a todos que de forma direta e indireta contribuíram para este projeto, a minha eterna gratidão!

“Vejo os rojões, no alto do céu, quebrando o silêncio de sonhos antigos”

(Os Arrais).

RESUMO

As doenças cardiovasculares (DCVs) são consideradas a maior causa do número de mortes no mundo. Possuem diversos fatores de risco, sendo o principal a hipertensão arterial sistêmica (HAS). Evidências apontam que infecções virais estão associadas com o aumento do risco de DCVs maiores, como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, entre outras. O citomegalovírus (CMV) é um herpesvírus com prevalência de cerca de 80% no Brasil e que pode afetar diretamente as células endoteliais causando disfunção endotelial e contribuindo com o desenvolvimento de DCVs. Uma das causas associadas a reativação do CMV é o estresse oxidativo, o qual encontra-se aumentado na hipertensão arterial. Em vista disso, o objetivo desse estudo foi avaliar a associação entre a infecção por CMV e o estresse oxidativo em pacientes hipertensos. Ao total 118 pessoas participaram dessa pesquisa, 63 hipertensos e 55 normotensos. A pesquisa foi realizada em Unidades Básicas de Saúde de Sinop-MT e na Universidade Federal de Mato Grosso, e teve a aprovação do Comitê de ética sob o número do protocolo 5.711.138. Foram considerados hipertensos os indivíduos que apresentavam pressão arterial sistólica acima de 140mmHg ou diastólica acima de 90 mmHg ou ainda se possuíam o diagnóstico clínico e faziam uso de medicamento anti-hipertensivo. Inicialmente foram coletados dados demográficos, parâmetros pressóricos, bem como amostras sanguíneas, para posterior análise. A população hipertensa estudada era composta mais por mulheres (74,6%), com idade média de 61,1 anos, pressão arterial sistólica de 140,6 mmHg e diastólica de 78,4 mmHg. Apenas 6,3% possuíam ensino superior, a taxa de analfabetismo foi de 12,7% e 77,8% possuíam uma renda familiar de até dois salários-mínimos. Quanto as análises, foi detectado a presença de IgG anti-CMV no soro de todos os participantes desse estudo, no entanto o grupo hipertenso apresentou níveis mais baixos de anticorpos específicos *versus* os normotensos. Foi constatado um desequilíbrio dos marcadores indiretos do estresse oxidativo, sendo que houve redução significativa da atividade da catalase e aumento da atividade das proteínas carboniladas no grupo hipertensos comparado aos normotensos. Além disso, observou-se uma correlação negativa entre a concentração sérica de anticorpos IgG anti-CMV com a atividade enzimática, superóxido dismutase (SOD) ($r = -0,374$) e a catalase (CAT) ($r = -0,366$), no grupo hipertensos. Enquanto no grupo normotensos foi constatado uma correlação positiva entre a concentração de anticorpos IgG anti-CMV com a atividade de TBARs ($r = +0,393$). Os pacientes hipertensos foram também divididos em relação a presença e ausência de diabetes, e verificamos que a ausência do fator diabetes aumentou os níveis do antioxidante CAT no soro dos participantes. Portanto, a hipertensão arterial está associada com o desequilíbrio do *status* redox, sendo sugestivo que as alterações presentes nas atividades enzimáticas oxidativas tem relação com a concentração de anticorpos IgG anti-CMV.

Palavras-chave: Hipertensão arterial; citomegalovírus; estresse oxidativo.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVDs) are considered to be the biggest cause of death in the world. There are several risk factors, the main one being systemic arterial hypertension (SAH). Evidence shows that viral infections are associated with an increased risk of major CVDs, such as myocardial infarction and stroke, among others. Cytomegalovirus (CMV) is a herpesvirus with a prevalence of around 80% in Brazil and which can directly affect endothelial cells, causing endothelial dysfunction and contributing to the development of CVDs. One of the causes associated with CMV reactivation is oxidative stress, which is increased in hypertension. The aim of this study was to assess the association between CMV infection and oxidative stress in hypertensive patients. A total of 118 people took part in this study, 63 hypertensive and 55 normotensive. The research was carried out in the Basic Health Units of Sinop-MT and at the Federal University of Mato Grosso, and was approved by the Ethics Committee under protocol number 5.711.138. Individuals with systolic blood pressure above 140 mmHg or diastolic blood pressure above 90 mmHg or if they had a clinical diagnosis and were taking antihypertensive medication were considered to be hypertensive. Demographic data, blood pressure parameters and blood samples were initially collected for later analysis. The hypertensive population studied was made up more of women (74.6%), with an average age of 61.1 years, systolic blood pressure of 140.6 mmHg and diastolic blood pressure of 78.4 mmHg. Only 6.3% had higher education, the illiteracy rate was 12.7% and 77.8% had a family income of up to two minimum wages. As for the analyses, the presence of anti-CMV IgG was detected in the serum of all the participants in this study, although the hypertensive group had lower levels of specific antibodies than the normotensive group. An imbalance of indirect oxidative stress markers was found, with a significant reduction in catalase activity and an increase in carbonylated protein activity in the hypertensive group compared to the normotensive group. In addition, there was a negative correlation between the serum concentration of IgG anti-CMV antibodies and enzyme activity, superoxide dismutase (SOD) ($r = -0.374$) and catalase (CAT) ($r = -0.366$), in the hypertensive group. In the normotensive group, there was a positive correlation between the concentration of IgG anti-CMV antibodies and TBAR activity ($r = +0.393$). The hypertensive patients were also divided according to the presence and absence of diabetes, and we found that the absence of diabetes increased the levels of the antioxidant CAT in the serum of the participants. Therefore, hypertension is associated with an imbalance in redox status, suggesting that the alterations present in oxidative enzyme activities are related to the concentration of IgG anti-CMV antibodies.

Keywords: Hypertension; cytomegalovirus; oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquematização do processo de infecção do CMV.....	15
Figura 2 – Estresse oxidativo: desequilíbrio entre antioxidantes e oxidantes.....	19
Figura 3 – Fluxograma.....	26
Figura 4 – Marcadores antioxidantes indiretos no soro de hipertensos e normotensos.....	35
Figura 5 - Marcadores oxidantes indiretos no soro de hipertensos e normotensos.....	35
Figura 6 – Dosagem de imunoglobulina IgG no soro de hipertensos e normotensos.....	36
Figura 7 – Dosagem de ácido úrico no soro de hipertensos e normotensos.....	36
Figura 8 – Correlação das variáveis dos Hipertensos. Gráfico estilo Heat map.....	37
Figura 9 – Correlação das variáveis dos Normotensos. Gráfico estilo Heat map.....	38
Figura 10 Análise de correlação na concentração de IgG CMV em hipertensos com Marcadores antioxidantes: SOD e CAT.....	39
Figura 11 – Análise de correlação na concentração de IgG CMV em normotensos com Marcadores oxidantes: TBARs.	40
Figura 12 – Resultados da análise de correlação entre normotensos diabéticos e não diabéticos; hipertensos diabéticos e não diabéticos	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação da pressão arterial	18
Tabela 2 – Perfil demográfico da população hipertensa e normotensa das UBS de Sinop-MT.....	32
Tabela 3 – Caracterização dos dados numéricos da população estudada que foram coletados nas UBS de Sinop-MT.....	33
Tabela 4 – Faixa etária da população estudada.....	34
Tabela 5 – Análise das correlações entre a concentração do anticorpo IgG anti-CMV <i>versus</i> Marcadores do estresse oxidativo e variáveis numéricas.....	38

SUMÁRIO

1. Introdução	13
1.1 Citomegalovírus	13
1.2 Hipertensão arterial	17
1.3. CMV e hipertensão arterial	21
2. Objetivos.....	24
2.1 Objetivos geral	24
2.2 Objetivos específicos.....	24
3. Material e métodos	25
3.1 População	25
3.2 Fluxogramas de conduta com os pacientes	25
3.3 Avaliação do estresse oxidativo.....	26
3.3.1 Vitamina c (ácido ascórbico).....	26
3.3.2 Catalase	27
3.3.3 Superóxido dismutase	27
3.3.4 Proteínas carboniladas	28
3.3.5 Glutationa-s-transferase	28
3.3.6 Peroxidação lipídica	29
3.4 Ensaio imunoenzimático	29
3.5 Ácido úrico	30
3.6 Análise estatística.....	30
4. Resultados	32
4.1 Caracterização da população estudada	32
4.2 Marcadores do estresse oxidativo.....	34
4.3 Dosagem de imunoglobulina IgG anti-CMV	36
4.4 Dosagem de ácido úrico.....	36
4.5 Correlação entre anticorpos e compostos antioxidantes nos hipertensos e normotensos	37
5. Discussão	41
6. Conclusão	45
7. Referências bibliográficas.....	46
8. Artigo.....	55
Anexos.....	72

1. INTRODUÇÃO

1.1 Citomegalovírus

O citomegalovírus humano (CMV) pertence à família dos *Herpesviridae* e a subfamília dos β -*Herpesviridae*. É constituído por fita dupla de DNA e considerado o maior entre os vírus humanos, tendo aproximadamente 230 kb de tamanho. O seu genoma é envolvido por um capsídeo icosaédrico com camadas de proteínas e bicamada lipídica onde se encontram as glicoproteínas virais (BOECKN; GEBALLE, 2011).

O CMV está distribuído em todo o mundo, sendo considerado o vírus mais presente em seres humanos. A sua soroprevalência pode variar de 40% a 100% em adultos (MURRAY; PETERS; REEVES, 2018). Um estudo publicado em 2016 analisou 33 artigos epidemiológicos realizados no continente africano, constatando uma média de 88,3% de soroprevalência positiva para CMV em adultos (BATES; BRANTSÆTER, 2016). Em outros países, como na Tunísia, a presença de IgG para CMV chegou a 97% em 280 pessoas (GARGOURI *et al.*, 2000), sendo que em algumas partes na Ásia e da África a prevalência chegou próximo dos 100% (GAYTANT *et al.*, 2002; JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008; HE *et al.*, 2023). Outras populações também foram avaliadas, como um grupo de 546 mulheres grávidas na cidade de Ismaília, capital da Província Egípcia, que detectou 100% da presença de IgG específico para CMV (KAMEL *et al.*, 2013).

A nível nacional, a variação da incidência é semelhante, pois pode ter alta prevalência dependendo da região (BEZERRA, 2021). No norte do Brasil, um estudo realizado com 324 grávidas no estado do Pará, constatou a presença de 96,3% de IgG anti-CMV (GUERRA *et al.*, 2018). No Nordeste, Faria *et al.* (2014) descreveram um estudo de soroprevalência em Recife, abordando casos de herpesvírus associado com mucosite oral, detectando presença de IgG anti-CMV em 81,2% das crianças. Na Bahia, foi averiguado que em 636 doadores de sangue 87,9% foram positivos para CMV (MATOS; MEYER; LIMA, 2010).

No Centro-oeste, um estudo dirigido pela Universidade Federal de Mato Grosso, na cidade de Cuiabá, analisou cerca de 800 prontuários de crianças e adolescentes atendidos pelo Hospital Universitário, constatando a presença de IgG e IgM anti-CMV, com o percentual de 70,4% e 4,1%, respectivamente (SOARES; DONATTI; SOUTO, 2014). No Sul e Sudeste, um estudo observou-se uma alta prevalência de anti-CMV no soro da população estudada, sendo que no estado de Santa Catarina houve uma prevalência de cerca de 95%, ao passo que no Rio

de Janeiro e São Paulo, a taxa foi de 78,7% e 84,8%, respectivamente (LOBATO-SILVA, 2016). Esses dados, em conjunto, evidenciam a alta prevalência da infecção por CMV no Brasil e no mundo, sendo um problema de saúde pública.

A transmissão do CMV ocorre por meio do contato com fluídos corporais como as secreções genitais, sangue, leite materno e por transplante de órgãos (BOECKN, GEBALLE, 2011). As crianças são consideradas importantes na cadeia de transmissão viral, pois excretam o vírus pela urina e saliva por tempo indeterminado. Nesse caso, familiares, profissionais de saúde e cuidadores infantis ou pré-escolares ficam mais propensos a adquirir o vírus. Na fase adulta, os jovens são os principais transmissores da doença, pois a via sexual passa a ser a principal forma de transmissão horizontal (YINON; FARINE; YUDIN, 2010; JOHNSON; ANDERSON; PASS, 2012).

Existem três subtipos de infecção do vírus, sendo que a infecção primária (aguda) é quando o indivíduo entra em contato pela primeira vez com o vírus. Essa interação ocorre por processos mediados por glicoproteínas virais (gB, gH e gL) com receptores da membrana celular do hospedeiro, incluindo integrinas e receptores de fatores de crescimento (Figura 1) (BOECKN, GEBALLE, 2011; GRIFFITHS, REEVES, 2021). A infecção celular, ocorre geralmente em macrófagos, células pluripotentes, fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais e epiteliais. Os sintomas clínicos que podem estar presente nessa fase são mal-estar, febre e linfonodomegalia. No entanto a maioria dos infectados são assintomáticos (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021).

Depois desse processo acontece a fase latente, onde o vírus possui mecanismos de escape e consegue sobreviver em tipos celulares específicos por longos períodos. Sabe-se que monócitos, macrófagos e células dendríticas são consideradas os principais tipos celulares que abrigam o vírus. Um dos mecanismos empregados pelo CMV é a prolongação da sobrevivência celular por meio da modulação de vias intracelulares antiapoptóticas, consequentemente o vírus consegue permanecer e usufruir das maquinarias celulares por mais tempo (BOECKN, GEBALLE, 2011; MURRAY; PETERS; REEVES, 2018).

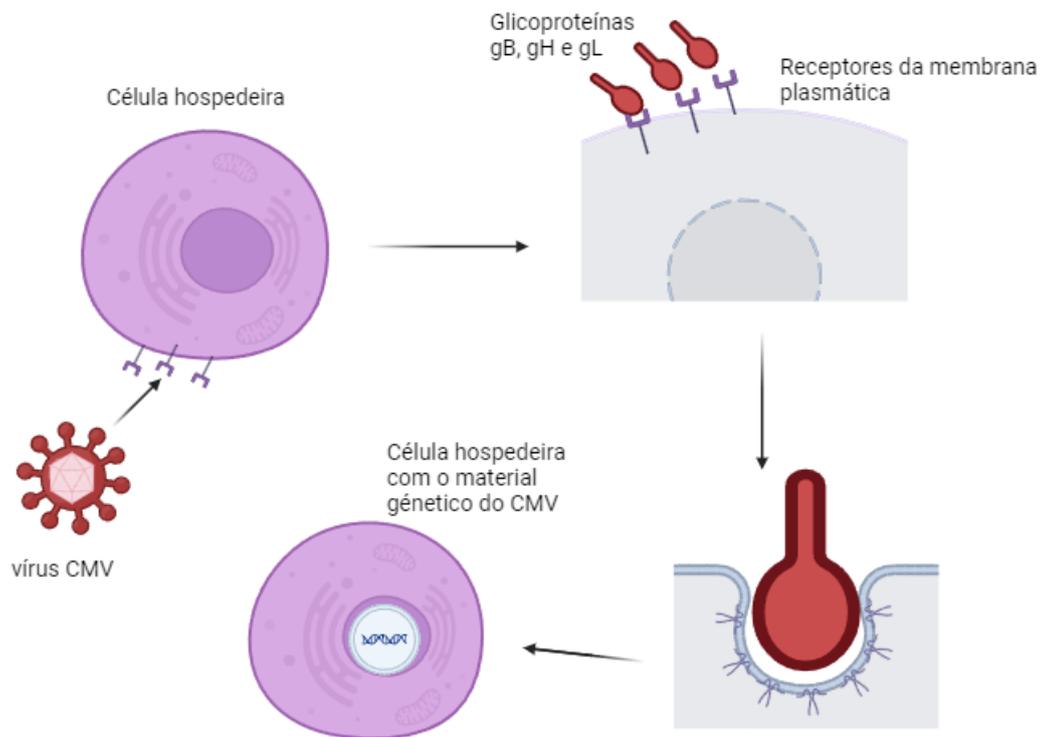


Figura 1. Esquematização do processo de infecção do CMV. Glicoproteínas virais, gB, gH e gL interagem com integrinas e receptores de fatores de crescimento na membrana plasmática do hospedeiro, primeiro contato para o vírus invadir a célula e replicar seu material genético. Fonte: Própria.

Por fim, pode haver a reativação viral, que pode ocorrer por meio do aumento de citocinas inflamatórias (TNF e IL-6) (HARGETT; SHENK, 2010), bem como em casos de imunodeficiência ou estresse agudo (JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008; ROMKES *et al.*, 2016). Um estudo mostrou que pacientes imunocompetentes que apresentam reativação do CMV durante situações críticas, como internação em UTI, possuem o dobro de risco de morte, comparado aos sem reativação (MANSFIELD *et al.*, 2015). Um outro estudo, realizado *in vitro*, isolou células mononucleares do sangue periférico de doadores saudáveis, mas soropositivos para CMV e realizou uma estimulação alogênica, ou seja, adicionou na cultura células mononucleares isoladas de indivíduos diferentes. Os autores demonstraram que em 17 dias houve reativação viral do vírus que se encontrava latente nas células mononucleares, e ainda discutiram o papel das citocinas nessa reativação (SÖDERBERG-NAUCLÉR; FISH; NELSON, 1997). De fato, processos inflamatórios podem ser um importante mecanismo para reativação do CMV que permanecia latente (BOECKN, GEBALLE, 2011).

A investigação por CMV na prática médica só possui importância em casos específicos, visto que a maioria dos casos em imunocompetentes não apresentam sintomatologia, mas pode surgir na fase aguda, manifestações clínicas semelhantes à mononucleose, como febre, mal-

estar e adenopatia (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021). Entretanto, em alguns casos pontuais como na gestação, pode ocorrer a transmissão vertical que é a passagem do vírus para a criança, e pode acontecer sob algumas formas: primo-infecção, também chamada de infecção primária, ou reinfecção que é a contaminação por outra linhagem do vírus. Além dessas, a reativação viral pode ocorrer por conta de alterações hormonais associadas a gravidez e lactação (ADACHI *et al.*, 2017; FEBRASGO, 2021).

A infecção congênita e perinatal pode levar o acometimento do feto, visto que o vírus atravessa a barreira placentária, invadindo vários tipos celulares como astrócitos e células tronco-neurais. No feto, o vírus acomete o tecido do sistema nervoso central, e pode promover alterações como anomalias cerebrais, microcefalia, perda auditiva neurossensorial e visual (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021). Contudo, a incidência de CMV congênito é variável, nos Estados Unidos é em torno de 0,5% a 2,0% em nascidos vivos, enquanto a nível nacional é um pouco mais de 1,0% (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021; FEBRASGO, 2021).

Também existe relevância clínica em casos de pacientes imunossuprimidos como portadores de HIV e em transplantados, pois os riscos são maiores e significativos, já que em situações em que o sistema imune está comprometido o vírus tem a capacidade de promover disfunções em tecidos diferentes e quando há a reativação viral pode acometer a retina, o trato gastrointestinal, sistema nervoso, fígado e pulmões (JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008).

Em relação ao diagnóstico laboratorial, existem dois marcadores sorológicos que são comumente utilizados na investigação clínica, o IgM anti-CMV e o IgG anti-CMV. A detecção do IgM anti-CMV, pode indicar infecção atual ou recente, mas nem sempre significa infecção aguda, visto que essa imunoglobulina pode permanecer positiva por mais de um ano (BOLANUMI *et al.*, 2011; FEBRASGO, 2021). Já a presença do IgG anti-CMV, pode indicar infecção passada ou latente, mas dependendo da titulação também é sugestivo de uma soroconversão, ou seja, uma reinfecção viral. No campo científico, a pesquisa de IgG anti-CMV é notoriamente mais escolhida para estudos epidemiológicos, um exemplo disto é uma meta análise que avaliou 33 estudos de soroprevalência do CMV no continente Africano, demonstrando prevalência do vírus por meio deste anticorpo (BOLANUMI *et al.*, 2011; BATES; BRANTSÆTER, 2016). O tipo de material biológico usado para as dosagens dos anticorpos podem ser soro ou plasma tratado com ácido etilodiaminotetracético (EDTA), heparina ou citrato.

Além disso, também pode ser realizado o teste de avidéz de IgG que avalia a força de ligação entre o anticorpo com o antígeno viral, fornecendo um indicativo de infecção primária, visto que quanto menor é a avidéz mais recente será a infecção. De acordo com a Federação Brasileira das associações de Ginecologia e Obstetrícia, essa análise adicional, é mais indicada em casos difíceis de elucidação, como a presença conjunta de IgM anti-CMV e IgG anti-CMV (AVCIOGLU; BEHCET; KURTOGLU, 2020; HUGHES *et al.*, 2021; FEBRASGO, 2021).

Existem ainda outras metodologias laboratoriais, como o isolamento viral por meio de culturas de células a partir de amostras de saliva e urina, sendo considerado como padrão ouro, sendo mais utilizados em pesquisas científicas do que em diagnósticos clínicos (BOPPANA *et al.*, 2011; AMIN *et al.*, 2018). Com o advento da biologia molecular, se utiliza também a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) a partir de uma amostra de DNA previamente extraída para a sua amplificação, tornando possível quantificar a carga viral. Contudo, devido o alto custo de reagentes e aparelhos se torna uma variável limitante para o seu uso (AMIN *et al.*, 2018).

Diante dessa descrição, o diagnóstico e a investigação fisiopatológica dos efeitos da infecção por CMV em diferentes órgãos se mostra muito importante, sendo que iremos focar aqui na relação entre o CMV e as DCVs, como a hipertensão arterial.

1.2 Hipertensão arterial

A hipertensão arterial é um distúrbio que é considerado o principal fator de risco para DCVs, condição responsável por uma a cada três mortes no mundo (WHO, 2003). De acordo com as diretrizes brasileiras de hipertensão arterial, o quadro hipertensivo é caracterizado quando há elevação persistente da pressão nos seguintes parâmetros: pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg e pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg, verificada com a técnica correta, porém existem outras classificações como a pré-hipertensão, conforme demonstrada na tabela 1 (BARROSO *et al.*, 2021).

Quando persistente, a hipertensão pode contribuir para o desenvolvimento de alterações nos vasos sanguíneos renais, cardíacos e cerebrais, resultando em aumento na incidência de insuficiência renal, coronariopatia, insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral, ou seja, se tornando um importante fator de risco para DCVs (AVC) (HALL, 2017; BOMFIM *et al.*, 2019).

Tabela 1. Classificação da pressão arterial

Classificação	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
PA ótima	< 120	< 80
PA normal	120-129	80-84
Pré-hipertensão	130-139	85-89
HA estágio 1	140-159	90-99
HA estágio 2	160-179	100-109
HA estágio 3	≥ 180	≥ 110

Classificação da pressão arterial, a partir de 18 anos, conforme as Diretrizes Brasileira de Hipertensão Arterial. Fonte: Barroso et al., 2021.

A hipertensão arterial acomete mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo, cerca de 1 a cada 4 homens e 1 a cada 5 mulheres possuem essa condição, sendo que os países mais vulneráveis socio economicamente são os mais afetados, visto que dois terços dos hipertensos são dessas regiões (WHO, 2023). No Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde, foi demonstrado que 32,3% da população estava com os níveis pressóricos altos, e que essa taxa aumentava conforme a progressão da idade, chegando a 71,7% em indivíduos acima dos 70 anos. Essa prevalência reflete consequentemente na taxa de mortalidade, dado que 27,3% de óbitos ocorridos em 2017 foram em razão de DCVs (BARROSO et al., 2021).

Fisiologicamente, a pressão arterial é originada e mantida pela interação entre a força exercida pelo coração, capacidade elástica da aorta e a resistência ao fluxo sanguíneo exercidos por artérias e arteríolas, sendo caracterizada pelos seus dois determinantes fundamentais que é a relação do débito cardíaco com a resistência periférica (AIRES, 2012).

A resistência vascular é a oposição ao fluxo, causada principalmente pela fricção do sangue contra as paredes dos vasos sanguíneos, sendo que o endotélio vascular desempenha papel importante, visto que é capaz de sintetizar e liberar substâncias vasoativas e vasoconstritoras que controlam o tônus vascular (HALL, 2017). Um dos principais elementos secretados pelo endotélio vascular é o óxido nítrico (NO) que é considerado um potente vasodilatador (ZAGO; ZANESCO, 2006). O NO é um gás lipofílico sintetizado a partir das enzimas óxido nítrico-sintases derivadas do endotélio (eNOS) que possui ação imediata e local, que provoca relaxamento dos vasos sanguíneos (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002). O fluxo sanguíneo nas artérias e arteríolas promove um estresse por cisalhamento em virtude da velocidade do fluxo sanguíneo e viscosidade do sangue, a partir deste momento é liberado o NO com a finalidade benéfica de relaxar os vasos. Este efeito metabólico é importante principalmente na dilatação de pequenos vasos para a passagem do sangue (ZAGO; ZANESCO, 2006; AIRES, 2012).

Outros estímulos fisiológicos também são realizados para a síntese do NO, como a atuação de hormônios (adrenalina, vasopressina, angiotensina II e aldosterona), constituintes do plasma e produtos derivados das plaquetas. Existem ainda receptores intracelulares nas células endoteliais que estimulam o aumento da concentração intracelular de cálcio com a finalidade de ativar as enzimas responsáveis pela síntese do NO. Portanto, o NO, atua não somente na vasodilatação, mas também atua como protetor na vasoconstrição excessiva (ZAGO; ZANESCO, 2006; AIRES, 2012; HALL, 2017).

A hipertensão arterial provoca injúrias nas células endoteliais que por sua vez compromete a síntese do NO, e este dano promove uma vasoconstrição excessiva que piora o quadro de hipertensão. Conseqüentemente vasos e tecidos sofrem insultos, com destaque nos tecidos do coração, cérebro e rins. Partindo, desta nuance a hipertensão é um fator de risco para o desenvolvimento de DCVs (HALL, 2017).

Outro mecanismo que envolve prejuízo na função do endotélio é o estresse oxidativo, o qual é o desequilíbrio de oxidantes e antioxidantes em favor dos agentes oxidativos que promovem alterações moleculares (Figura 2.). A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) que são formadas por processos de oxidação-redução, é entendida como quando uma molécula perde um elétron e este é transferido para uma molécula receptora. Sabe-se que esses danos vão de acordo com o nível do alcance oxidativo nos componentes celulares, como mitocôndria e núcleo (AIRES, 2012; LOPERENA; HARRISON, 2017; FRANCO et al., 2022).

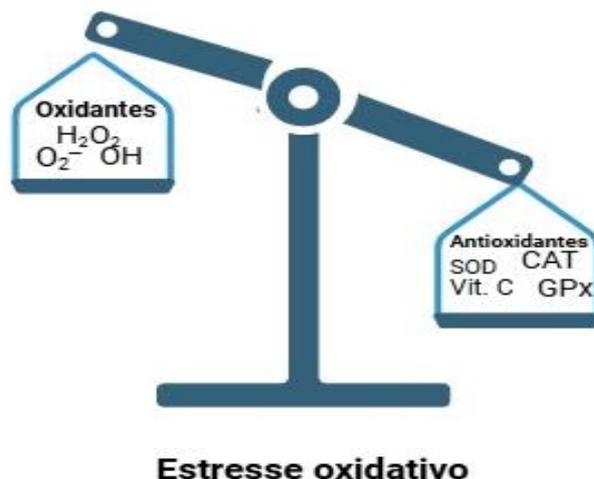


Figura 2. Desequilíbrio entre antioxidantes (SOD, superóxido dismutase; Cat, catalase; Vit. C, ácido ascórbico e GPx, (glutathiona peroxidase) e oxidantes (O_2^- , superóxido; H_2O_2 , peróxido de hidrogênio e OH, radical hidroxila). Exacerbação de agentes oxidantes, caracterizando o estresse oxidativo. Fonte: Própria.

Inicialmente o conceito de estresse foi proposto por Hans Selye em 1976, “O estresse é uma resposta não específica do corpo a qualquer demanda”. Posteriormente, a conotação oxidativa foi empregada para indicar dano em células e órgãos, tal termo foi exemplificado em alguns experimentos como o da adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em eritrócitos, visto que foi observado dano celular após exposição com esse agente oxidante (SELYE, 1976; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

Existem várias subformas de estresse oxidativo de acordo com a sua natureza química, sendo a que mais possui impacto são as EROs (SILVEIRA, 2004; LOPERENA; HARRISON, 2017). Dentre estes existem grupos com maior importância que são: o radical ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) (EZHILARASAN, 2018).

Todavia, em condições fisiológicas a presença de substâncias oxidantes é importante na defesa contra infecções e em outros processos como sinalização, regulação, crescimento e diferenciação celular, participando também na regulação do tônus vascular, inflamação e nas respostas imunes (MONTEZANO et al., 2015; LUANGMONKONG et al., 2018). Além disso, as EROs influenciam na atividade proteica e na função celular, por meio de interações entre proteínas alvos como transportadores de íons, receptores, quinases e metaloproteinases (MMPs), sendo que todas essas moléculas são fundamentais na regulação endotelial (CHATTERJEE; FISHER, 2014; MONTEZANO et al., 2015).

No que diz respeito aos agentes antioxidantes, são classificados em dois grupos: os enzimáticos e não enzimáticos. O primeiro mencionado, inclui superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase, possuindo mecanismos contra o efeito oxidante. Por exemplo, a SOD catalisa a dismutação de O_2^- para H_2O_2 e uma molécula de O_2 , por sua vez a CAT e a glutatona peroxidase promove a decomposição de H_2O_2 para H_2O e O_2 . Em relação aos não enzimáticos, estes atuam diretamente no radical hidroxila, fazendo a sua neutralização, podendo ser citada a vitamina C (ácido ascórbico) e a vitamina E (α -tocoferol) (YASUI; BABA, 2006; LOPERENA; HARRISON, 2017).

Há vários mecanismos na fisiopatologia da hipertensão que envolve o estresse oxidativo, sendo que a exacerbação de EROs pode induzir o aumento de prostanóides que por sua vez aumenta a vasoconstrição, consequentemente elevando a pressão sanguínea (MONTEZANO et al., 2015). Outro aspecto estudado é a inflamação desencadeada na hiperatividade dessas substâncias, pois promove a migração de células de defesas para o vaso, gerando um processo inflamatório e sendo um estímulo no desenvolvimento de aterosclerose (MONTEZANO et al., 2015; PINHEIRO; OLIVEIRA-PAULA, 2020).

Como já citado o NO desempenha papel importante na vasodilatação, auxiliando na regulação da pressão sanguínea (ZAGO; ZANESCO, 2006; HALL, 2017). O NO reage diretamente com o ânion superóxido como uma forma de defesa, mas a exacerbação de substâncias oxidantes prejudica a atividade das eNOS devido à falta de cofatores, que por sua vez promove a síntese de ânion superóxido em vez de NO. Desta maneira ocorre a diminuição da biodisponibilidade do NO, contribuindo para DCVs, incluindo a hipertensão (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002; PINHEIRO; OLIVEIRA-PAULA, 2020).

Além dessas contribuições para a hipertensão, o estresse oxidativo possui atividade sobre o remodelamento cardíaco por comprometer a função e estrutura do miocárdio, por intermédio de ações que induz apoptose de miócitos e hipertrofia do músculo cardíaco. Também é observado sua interferência na contração, visto que afeta a entrada de cálcio nas células e em proteínas dependentes de cálcio (MONTERA, 2007). Portanto, é evidente que as EROs desempenham papel crucial na fisiopatologia da hipertensão através de vários mecanismos já publicados, corroborando nessa correlação.

Uma importante discussão em todo esse processo são os fatores que podem desencadear o aumento do estresse oxidativo na hipertensão. A principal fonte estimuladora envolvida é o estresse de cisalhamento, o qual seria a pressão mecânica exercida pelo sangue nos vasos devido ao aumento da pressão arterial. Outro mecanismo que pode levar ao estresse oxidativo na hipertensão é a presença de infecções virais, sendo que iremos discutir mais a possível participação do CMV nesse processo.

1.3. CMV e hipertensão arterial

Além da infecção aguda e latente já bem descrita, há vários estudos que demonstram a associação do CMV com outras patologias, um exemplo disto, é o seu envolvimento em doenças vasculares como hipertensão e aterosclerose, pois o vírus infecta células endoteliais ativando mecanismos disfuncionais locais, como inflamação (JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008; HE *et al.*, 2023).

Há vários trabalhos direcionados na correlação entre CMV com DCVs (STREBLOW *et al.*, 2008; CAPOSIO; ORLOFF, STREBLOW, 2011; WANG *et al.*, 2016). Zhen e colaboradores, em 2022, demonstraram que mulheres infectadas com CMV possuíam um risco 22% maior de serem acometidas por um AVC, comparativamente àquelas que apresentavam sorologia negativa para CMV. Outro estudo (TAN *et al.*, 2022) demonstrou que a presença da imunoglobulina IgG anti-CMV é um fator de predisposição para doença da artéria coronária,

doença arterial periférica e eventos trombóticos. Outras publicações de Wang e colaboradores (2016), Jung e Lee (2022) e Zhen e colaboradores (2023) corroboram com essa correlação existente entre CMV com distúrbios cardiovasculares. Dentre desses, um estudo de meta análise foi elaborado analisando 9 ensaios clínicos, com a participação de quase 12 mil voluntários de diferentes regiões do mundo (WANG et al., 2016). Desses ensaios, seis estudos, sendo cinco conduzidos na China e um nos Estados Unidos, demonstraram uma forte associação entre a infecção por CMV e a hipertensão. Além disso, observou-se que títulos elevados de IgG anti-CMV estão correlacionados com a idade e a elevação tanto da pressão sistólica quanto da diastólica. Portanto, sugere-se que o CMV pode ser um possível fator de risco, mas não necessariamente uma causa independente de hipertensão, cujos mecanismos ainda não estão bem elucidados (WANG et al., 2016; BOMFIM et al., 2023).

Especula-se que alguns mecanismos celulares gerados pela infecção pelo CMV estejam associados com o desenvolvimento de DCVs, como o estresse celular e fisiológico gerados pelo vírus (JUNG; LEE, 2022), promovendo danos na função vascular, desordens no metabolismo de lipídios e na síntese de NO, indução de apoptose, formação de placas de ateroma, aumento de processo inflamatório e desregulação de proteínas (GRAHAME-CLARKE *et al.*, 2003; HE *et al.*, 2023; ZHEN *et al.*, 2023).

Outro estudo também relata que o acúmulo de plaquetas desencadeado por CMV nos vasos também influencia no acometimento de DCVs (JUNG; LEE, 2022). Além disso, células musculares lisas vasculares que são infectadas pelo CMV sofrem mudanças funcionais com efeitos citopáticos que induz a desregulação do gene ADAM9 que codifica as enzimas desintegrina e MMPs. Este gene desempenha papel importante principalmente em DCVs. O aumento da expressão deste gene, promove a liberação de TNF- α , IL-6 e CX3CL1, sendo que essas citocinas inflamatórias são relevantes na infiltração de macrófagos no interior dos vasos, levando um quadro de lesão vascular (SAITO *et al.*, 2013; HE *et al.*, 2023).

Outro importante mecanismo descrito em um artigo hipótese pelo nosso grupo, descreve o fenômeno da transcrição de receptores acoplados a proteína G viral (viral GPCR) pelo CMV. Resumidamente, o CMV possui a capacidade de infectar células e codificar diferentes vGPCR, como UL33, US27, UL78 e US28, sendo que essa codificação pode ocorrer na forma ativa e latente do vírus. Já foi descrito que o vGPCR US28 possui grande similaridade com o receptor de quimiocina CX3CR1. Quimiocinas são importantes moléculas sinalizadoras da resposta inflamatória, sendo responsáveis pela quimioatração de leucócitos, contribuindo com o infiltrado celular presente na inflamação. Dessa forma, a codificação do US28 pelo CMV, pode aumentar a ligação de diferentes quimiocinas, como CCL2, CCL5 e CX3CL1, contribuindo

com a ativação de mecanismos inflamatórios e contráteis nas células vasculares (MIKOLAJCZYK et al., 2021; BOMFIM et al., 2023).

Além desses mecanismos, existe uma forte interação entre CMV e mediadores do estresse oxidativo. Experimentos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que níveis altos de glutathiona intracelular, um importante antioxidante, apresentaram uma baixa permissividade para CMV em células endoteliais. Enquanto o inverso também ocorre, visto que um teor baixo de glutathiona promove tropismo do vírus para esse tipo celular (VOSSSEN *et al.*, 1997). Em outros testes foi evidenciado que culturas tratadas com butionina sulfoximina, agente oxidante, promoveu o aumento do crescimento viral em células endoteliais (SCHOLZ *et al.*, 1996). Além disso, outros tipos celulares como fibroblastos e células musculares lisas demonstraram uma total permissividade para a infecção viral, quando níveis de glutathiona se encontravam também reduzidos (VOSSSEN *et al.*, 1997). Outro ponto interessante, é que esse declínio de glutathiona também influencia na ativação de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 e IL-6) que por sua vez contribuem para a replicação viral. Logo, pode se concluir que mediadores antioxidantes são um fator de proteção contra o CMV em vários tipos celulares, incluindo as células endoteliais e que os mediadores oxidantes promovem o tropismo do vírus para essas células, contribuindo para a entrada e disseminação viral, sendo que essa afinidade torna a célula endotelial um sítio atrativo para o CMV, pois o vírus promove efeitos citopáticos mínimos, mantendo a célula hospedeira apta para latência viral (SCHOLZ *et al.*, 1996; VOSSSEN *et al.*, 1997; ARVIN *et al.*, 2007).

Tanto a hipertensão quanto a infecção por CMV são doenças com alta prevalência em todo o mundo e ambas estão relacionadas com processos inflamatórios. Há alguns estudos que demonstram essa correlação, a partir do ponto que algumas infecções virais como o CMV, pode se tornar um fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose, e este em conjunto com a hipertensão, são fatores relevantes para o acometimento de DCVs. Entretanto, apesar da falta de esclarecimento em relação aos mecanismos, acredita-se que o vírus promove alterações, principalmente nos fatores inflamatórios e oxidativos podendo contribuir com a hipertensão (WANG et al., 2016; JUNG; LEE, 2022). Em vista disso, fomos verificar a existência de uma correlação entre a infecção por CMV e o estresse oxidativo em pacientes hipertensos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos geral

Verificar a soroprevalência da infecção por CMV e sua correlação com o estresse oxidativo em pacientes normotensos e hipertensos.

2.2 Objetivos específicos

- Aplicar um questionário a respeito dos dados demográficos, do tratamento farmacológico e estilo de vida;
- Aferir a pressão arterial dos indivíduos participantes;
- Verificar a concentração de anticorpos IgG CMV no soro dos pacientes;
- Dosar marcadores indiretos oxidantes e antioxidantes no soro dos pacientes;
- Realizar análises de correlação com as variáveis coletadas, a pressão arterial e os resultados das dosagens realizadas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 População

Trata-se de um estudo transversal descritivo com análise quantitativa que foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa da UFMT campus Sinop, sob o parecer nº 5.711.138 CAAE 61418622.8.0000.8097. Tanto o parecer consubstanciado do CEP (ANEXO 1), quanto o questionário (ANEXO 2) e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (ANEXO 2) encontram-se em anexo, assinado em duas vias.

Participaram desse projeto pacientes atendidos em 11 Unidades Básicas de Saúde (UBS) que corresponde a 47,8% das unidades do município de Sinop-MT no período de setembro de 2022 a abril de 2023. Os pacientes foram abordados na unidade de saúde, foram esclarecidos a respeito do projeto e consultados quanto a participação voluntária no mesmo, sendo que só foi incluído no projeto aqueles que consentirem sua participação através da assinatura do TCLE. Os indivíduos normotensos que participaram do projeto foram abordados na Universidade Federal de Mato Grosso e nas UBS.

Foram incluídos nesse estudo pacientes normotensos e hipertensos acima de 18 anos de idade. Foram considerados hipertensos os pacientes com PAS igual ou acima de 140 mmHg ou diastólica igual ou acima de 90 mmHg ou pacientes com diagnóstico médico de Hipertensão arterial ou em uso de medicamentos anti-hipertensivos. Os pacientes considerados normotensos apresentavam pressão arterial abaixo de 140 por 90 mmHg e não faziam uso de anti-hipertensivos. Foram usados como critérios de exclusão os pacientes infectados com outros vírus como HIV, Hepatite B ou C, Sars-Cov-2 e gestantes.

3.2 Fluxogramas de conduta com os pacientes

Na fase inicial do estudo foi seguido um fluxograma para abordagem dos pacientes, conforme se vê na Figura 3. Primeiramente os participantes foram convidados a responderem um questionário com características sociodemográficas, estilo de vida para risco cardiovascular e situação clínica. Logo em seguida, com o paciente sentado por 5 minutos, foi realizada a aferição da pressão arterial e frequência cardíaca por meio de um aparelho medidor de pressão arterial automático digital (G-Tech), a verificação da pressão foi feita em ambos os membros superiores.

Depois foi coletado cerca 10 mL de sangue venoso com o uso de uma seringa, e transferido para um tubo sem anticoagulante. O sangue foi mantido em gelo e no mesmo dia levado ao laboratório de Virologia da UFMT, centrifugado (Spinlab) por 10 minutos a 8000 RPM, sendo aliquotado em microtubos e estocado em freezer (Coldlab) -80°C até a realização das análises.

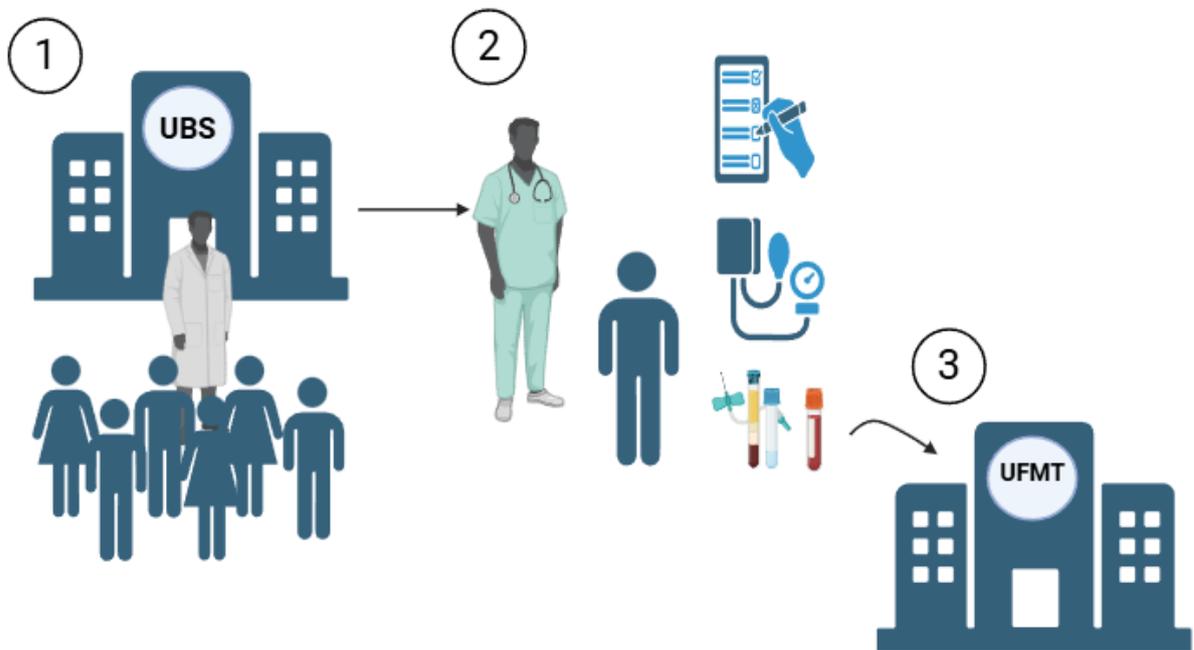


Figura 3. Fluxograma. Etapa 1: Abordagem dos voluntários na UBS; Etapa 2: Coleta de dados demográficos, verificação da PA e FC e coleta de material biológico (sangue venoso); Etapa 3: Preparação e acondicionamento do soro na UFMT para posterior análise.

3.3 Avaliação do estresse oxidativo

As análises referentes ao estresse oxidativo foram realizadas no laboratório integrado de pesquisas químicas (LIPEC) e no Núcleo de Pesquisa e Apoio Didático em Saúde (NUPADS) da UFMT, sob supervisão da professora responsável com o apoio da sua equipe de iniciação científica, seguindo os procedimentos operacional padrão (POP) do local.

3.3.1 Vitamina c (ácido ascórbico)

O protocolo utilizado para a dosagem de vitamina C foi o de ROE (1954), a diluição do soro para essa dosagem foi de 1:10, utilizou-se 900 μ L de fosfato de potássio 50mM, sob pH 7,8, para 100 μ L do soro. As amostras foram descongeladas sob temperatura ambiente, e realizada a diluição necessária. Logo em seguida, foram centrifugadas na centrífuga refrigerada

(Novatecnica) a 2000 rpm por 10 minutos a 4° C, descartado o sobrenadante e com o precipitado foi acrescentado ácido tricloroacético (TCA) 5% na proporção de 1:1 e homogeneizado. Repetiu-se o processo de centrifugação à 3000 rpm por 10 minutos sob temperatura de 4 ° C. Após esse processo, foi feita uma mistura com o soro contendo 100 µL de H₂O, 100 µL TCA 13,3 e 75 µL de 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH), sendo incubado à 37° C por 3 horas.

Após o período de incubação foi adicionado 500 µL de ácido sulfúrico 65% (H₂SO₄) aos tubos, homogeneizados e lidos a sua absorbância no aparelho espectrofotômetro (Varian/UV-visible Spectrophotometer) a 520 nm. No caso da vitamina C, os dados obtidos foram comparados com uma curva padrão de ácido ascórbico para determinação de seus níveis, sendo que a análise foi realizada em triplicata, os resultados foram anotados em caderno convencional e posteriormente transcritos para o Excel com dupla conferência. Além disso, a sua dosagem foi realizada o quanto antes devido a estabilidade do analito, seguindo protocolos de segurança, como o uso de EPIs.

3.3.2 Catalase

A atividade da CAT foi determinada conforme Nelson; Kiesow (1972), o soro foi diluído 1:10 com tampão fosfato 20 mM, sob pH 7,4 com Triton X-100 e cloreto de sódio (NaCl). A diluição aplicada foi 30 µL da amostra com 270 µL do tampão de homogeneização.

A leitura das absorbâncias foi realizada em duplicata no espectrofotômetro (Varian/UV-visible Spectrophotometer) em 240 nm, para essa análise foi feito o tampão de fosfato 50 mM, sob pH 7,0 diluído com água deionizada. Os resultados obtidos foram inicialmente passados e posteriormente transcritos para o Excel em dupla conferência.

3.3.3 Superóxido dismutase

Para essa análise foi utilizado o protocolo de Misra e Fridovich (1972), cujo conceito consiste que a enzima inibe a auto-oxidação do bitartarato de adrenalina. O soro foi diluído de 1:10. Foram usadas soluções de bicarbonato de sódio (0,604 g dissolvidos em 100 mL de água deionizada) e bitartarato de adrenalina (0,0399 g dissolvidos em água deionizada). As soluções foram feitas diariamente conforme a necessidade das leituras, enquanto a adrenalina foi mantida em temperatura refrigerada (2° C a 8° C) envolta com papel alumínio.

As leituras foram feitas uma única vez em 3 volumes distintos, sendo 20 µL, 40 µL e 60 µL e para cada amostra foi realizada a leitura do branco. Além disso, o frasco da adrenalina

foi mantido em recipiente com gelo e o tampão foi condicionado em banho maria a 30° C. As leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro (Varian/UV-visible Spectrophotometer) no comprimento de onda de 480 nm, o esperado é que os valores diminuam conforme o aumento do volume pipetado. Os resultados foram transcritos e posteriormente passados no Excel sob dupla conferência, sendo expresso como UI SOD/mg proteína.

3.3.4 Proteínas carboniladas

O protocolo foi o de Bradford (1976), as soluções foram preparadas nas seguintes proporções: HCL 2 M (1,65 mL com 8,35 mL de água ultrapura), sendo que esta solução foi necessária para preparar DNPH 10 mM (0,0198 g com 1,65 do HCL 2M) e adicionar água até completar os 10 mL. A solução alcalina NaOH 6 M (24 g para 100 mL de água ultrapura) também foi preparada, enquanto para a solução de tampão fosfato-salino (PBS) utilizou-se as seguintes concentrações para 100 mL da solução: cloreto de sódio (NaCl) 8,2 g, fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₂) 1,05 g e fosfato de sódio monobásico (NaHPO₄) 0,355 g diluídos com água ultrapura, sob pH de 7,2.

Foi pipetado 100 µL do soro com PBS já diluído (100mL com 900 mL de água ultrapura) nos poços da placa de ELISA identificados previamente. Em seguida, foi adicionado 100 µL de DNPH 10 mM nos poços e incubados em temperatura ambiente no escuro. Decorrido esse tempo, foi adicionado 50 µL de NaOH nos poços, sendo que a leitura foi determinada a 450 nm em leitor de microplaca (Biolisa Reader), sendo que esta análise foi feita em duplicata e o resultado foi expresso como nmol de carbonil/mg proteína (COLOMBO et al., 2016).

3.3.5 Glutathiona-s-transferase

A atividade da glutathiona-s-transferase (GST) foi determinada conforme modelo de HABIG; PABST; JAKOBY, (1974), as amostras foram diluídas na proporção de 1:5 (100 µL do soro com 400 µL do tampão). Nessa análise foram utilizadas tampão fosfato de potássio (TFK) 20 mM em pH 7,5, TFK 20 mM em pH 6,5, NaCl 150 mM, Glutathiona reduzida (GSH) 10 mM e cloro-2,4 dinitrobenzeno (CNDB) 20 mM, para dissolver foram utilizados água ultrapura e etanol.

Antes de iniciar a análise da amostra o aparelho foi zerado com água ultrapura e feito o branco com a seguinte solução: TFK 1,250 mL e GSH 150 uL, mantidos em banho Maria por 40 segundos e logo após adicionado 75 µL de CNDB. As leituras das amostras foram realizadas

em duplicata no espectrofotômetro (Bioplus) em 340 nm, os resultados foram anotados e transcritos no Excel em dupla conferência, sendo que os resultados foram expressos como $\mu\text{mol GS-DNB}/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

3.3.6 Peroxidação lipídica

O protocolo utilizado para determinar os níveis de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi o de Buege; Austbu (1978). Nesse caso, foi utilizado a amostra pura para fazer o experimento. Portanto, foi pipetado 200 μL da amostra com 200 μL de TCA 10%, essa mistura foi centrifugada na centrífuga refrigerada (Novatecnica) a 4250 rpm por 15 minutos. Decorrido esse tempo, foi pipetado 100 μL do sobrenadante em tubos falcon de plástico e mantidos em banho maria a 96 °C por 10 minutos. Logo em seguida, os frascos foram levados ao NUPADS, onde foi pipetado 100 μL nos poços da placa e a leitura foi feita em leitor de microplaca (Biolisa Render) no comprimento de onda de 535 nm. Os dados foram feitos em triplicata e transcritos no Excel, sendo que a formação de TBARS foi dada pela comparação com a curva de MDA e os resultados foram expressos em nmol MDA/mg proteína.

3.4 Ensaio imunoenzimático

Esse experimento foi realizado no NUPADS, no laboratório de doenças metabólicas e cardiovasculares, e utilizou-se um kit comercial (Euroimmun Brasil) para dosagem de IgG para CMV, a metodologia empregada foi de ELISA indireto. As amostras passaram por uma triagem, visto que o kit só dispunha de 96 testes. Portanto, foram selecionadas 61 amostras do grupo hipertensos e 30 amostras do grupo normotensos, além disso, os outros 5 testes restantes foram para fazer as calibrações e o controle positivo e negativo do ensaio.

As alíquotas foram descongeladas em temperatura ambiente e o kit do ensaio que estava sendo mantido em 4° C foi retirado do refrigerador. De início foi preparado a diluição do tampão Wash, sendo na proporção de 1:10 (900 mL de água destilada para 100 mL da solução tampão Wash). Logo em seguida foi iniciado a técnica conforme o fabricante: foi pipetado 100 μL das amostras, calibradores e controles nos respectivos poços e incubado por 30 minutos em temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, foi lavado 3 vezes com 300 μL (no total foram 900 μL) da solução tampão, em seguida foi adicionado 100 μL do conjugado de enzima e incubado por 30 minutos. Após a incubação foi lavado 3 vezes com 300 μL do tampão e posteriormente adicionado 100 μL do substrato cromogênio e incubado por 15 minutos. Na

última etapa, foi adicionado 100 µL da solução stop e a leitura da absorbância foi realizada em comprimento de onda 450 nm em leitor de microplaca (Biolisa Render). O ensaio foi validado com os resultados esperado das calibrações e dos controles positivo e negativo.

Os resultados foram expressos em RU/mL, sendo que o limiar de reatividade utilizados foram os seguintes valores: de <0.5 como não reagente e ≥ 1.0 como reagente, os valores entre $\geq 0,5$ a < 1.0 são considerados como borderline, ou seja, são considerados como indeterminados.

3.5 Ácido úrico

As dosagens de ácido úrico foram terceirizadas em um laboratório privado, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, cadastradas previamente, processadas e os resultados computados foram interfaceados e planilhados conforme os grupos avaliados.

O aparelho automatizado para fazer as análises foi o Cobas Pure c303 Roche, passando por um processo de validação através de calibração e controle interno, visto que antes da rotina é passado dois níveis de controle, um patológico e outro normal, sendo que esses resultados são avaliados através do gráfico de Levey-Jennings, respeitando que os resultados não ultrapassem de dois desvios em ambos os níveis do controle.

A metodologia utilizada para realização dos testes foi o colorimétrico enzimático, cujo princípio do ácido úrico é o seguinte: a uricase reage com o ácido úrico, formando alantoína e peróxido de hidrogênio, sendo que um dos produtos formados é a 4-aminofenazona que é oxidada pela peroxidase, resultando no corante quinona-diimina. A intensidade da cor desse corante reflete proporcionalmente a concentração do analito, sendo determinada pelo aumento na absorbância.

3.6 Análise estatística

Os dados obtidos estão apresentados em média e desvio padrão. As análises estatísticas entre os grupos foram realizadas por meio do Software GraphPad Prism, versão 8 (GraphPad Prism 8 para Windows, San Diego, CA, USA), considerando-se como nível de significância para o estudo o valor de 5%.

Os dados foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para avaliação da distribuição Gaussiana. A comparação entre os grupos (hipertensos e normotensos) foi realizada pelo teste t de Student. Foi realizada análise de correlação entre as variáveis estudadas, utilizando o valor de coeficiente de correlação que varia -1 a 1, sendo que valores próximos de -1 é considerada

uma correlação negativa, onde as variáveis tendem a variar inversamente, enquanto valores próximos de 1, indicam uma correlação positiva, sugerindo que as duas variáveis tendem a aumentar juntas. Resultados que pontuam no 0 sugere ausência de correlação entre as variáveis.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da população estudada

De acordo com os dados apresentados na tabela 2, 118 pessoas aceitaram participar do projeto, sendo que 53,4% eram hipertensos e 46,6% normotensos. A população estudada é formada majoritariamente de mulheres em ambos os grupos, totalizando 76,3%. No grupo dos hipertensos, o sexo feminino corresponde a 74,6%, sendo que apenas 6,3 % possuem ensino superior completo e a taxa de analfabetismo é de 12,7%. Quanto a condição econômica, a renda familiar de 77,8% não ultrapassava de dois salários-mínimos e nenhum dos participantes possuem uma renda superior a cinco salários. Em relação ao estilo de vida a população hipertensa apresentou uma taxa de 22,2% de consumo de álcool, a prática de exercícios físicos corresponde a 38,1%, sendo que a maioria dos hipertensos, 88,8%, consomem vegetais regularmente. Nesse mesmo grupo, 42,8% possuem diabetes mellitus e 26,9% dislipidemia.

A respeito do grupo normotensos, o sexo feminino corresponde a 78,2%, sendo que um pouco mais da metade, 50,9%, possuem ensino superior e a taxa de analfabetismo é de 3,6%, e a renda familiar de 29,1% é de mais de 5 salários-mínimos e apenas 38,1% recebem até 2 salários-mínimos. Acerca do estilo de vida, quase um terço do grupo fazem uso de álcool, enquanto a prática regular de exercícios físicos é de 47,3% e o consumo de vegetais é de 89,1%. Em relação a comorbidades como diabetes mellitus, a taxa foi de 10,9% e a dislipidemia de 5,4%.

Tabela 2. Perfil demográfico da população hipertensa e normotensa das UBS de Sinop-MT, no período de outubro de 2022 a abril de 2023.

Variável	N (%)	Hipertensos	Normotensos	P
N (Voluntários)	118 (100%)	63 (53,4%)	55 (46,6%)	0,461
Sexo				
Masculino	28 (23,7%)	16 (25,4%)	12 (21,8%)	0,449
Feminino	90 (76,3%)	47 (74,6%)	43 (78,2%)	0,673
Escolaridade				
Ensino superior (completo)	32 (27,1%)	4 (6,3%)	28 (50,9%)	<0,001
Ensino superior (incompleto)	8 (6,8%)	2 (3,2%)	6 (10,9%)	0,157
Ensino Médio (completo)	15 (12,7%)	9 (14,3%)	6 (10,9%)	0,438
Ensino Médio (incompleto)	10 (8,5%)	5 (7,9%)	5 (9,0%)	>0,999
Ensino Fundamental (completo)	15 (12,7%)	13 (20,6%)	2 (3,6%)	0,004
Ensino Fundamental (incompleto)	28 (23,7%)	22 (34,9%)	6 (10,9%)	0,002
Analfabeto	10 (8,5%)	8 (12,7%)	2 (3,6%)	0,057

Renda familiar				
Até 1 salário-mínimo	11 (9,3%)	8 (12,7%)	3 (5,4%)	0,131
De 1 a 2 salários-mínimos	59 (50,0%)	41 (65,1%)	18 (32,7%)	0,002
De 2 a 5 salários-mínimos	32 (27,1%)	14 (22,2%)	18 (32,7%)	0,479
De 5 a mais salários-mínimos	16 (13,6%)	0 (0,0%)	16 (29,1%)	<0,001
Hábitos				
Uso de álcool	30 (25,4%)	14 (22,2%)	16 (29,1%)	0,715
Tabagismo	8 (6,8%)	5 (7,9%)	3 (5,4%)	0,479
Atividade física	50 (42,4%)	24 (38,1%)	26 (47,3%)	0,777
Ingestão de vegetais	105 (89%)	56 (88,8%)	49 (89,1%)	0,494
Morbidades				
Diabetes	33 (28%)	27 (42,8%)	6 (10,9%)	<0,001
Hipercolesterolemia	20 (16,9%)	17 (26,9%)	3 (5,4%)	<0,001
Doenças autoimunes	4 (3,4%)	2 (3,2%)	2 (3,6%)	>0,999
Citomegalovírus				
Presença de IgG	91 (77,1%)	61 (96,8%)	30 (54,5%)	0,001

Dados categóricos apresentados em percentuais e comparados com os dois grupos: hipertensos e normotensos. O percentual de cada categoria foi calculado a partir do N de cada grupo. O valor de P indica diferença entre os grupos estudados.

A tabela 3, apresenta os dados numéricos da população estudada. O primeiro aspecto analisado é em relação a idade dos dois grupos, o resultado demonstra que houve significância entre os dois grupos ($P < 0,05$), sendo que a média dos hipertensos é de 61,1 e a dos normotensos é de 44,4 anos.

Acerca dos parâmetros pressóricos, o grupo hipertenso apresentou uma média de 141,9x79,6 mmHg de PAS e PAD, respectivamente, no membro direito e de 139,3x79,3 mmHg no membro esquerdo. Enquanto nos normotensos a média foi de 121,1x77,5 mmHg no membro direito e de 119,4 x77,3 mmHg no esquerdo. Os dados demonstraram que a PAS apresentou diferença significativa entre os grupos, tanto na medida realizada no braço direito quanto no esquerdo, enquanto a PAD apresentou semelhança tanto no grupo hipertenso e no grupo normotenso. Com respeito a frequência cardíaca, não houve significância entre os grupos.

Tabela 3. Caracterização dos dados numéricos da população estudada que foram coletados nas UBS de Sinop-MT, no período de outubro de 2022 a abril de 2023.

Variável	Hipertensos	Normotensos	P
N (Voluntários)	63 (53,4%)	55 (46,6%)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Idade	61,1 ± 11,7	44,4 ± 13,3	<0,001

Pressão arterial mmHg			
Pressão arterial sistólica direita	141,9 ± 25,5	121,1 ± 16,0	<0,001
Pressão arterial diastólica direita	79,6 ± 16,3	77,5 ± 9,5	0,397
Pressão arterial sistólica esquerda	139,3 ± 26,7	119,4 ± 15,7	<0,001
Pressão arterial diastólica esquerda	79,8 ± 15,8	77,3 ± 10,3	0,329
Frequência cardíaca bpm			
	74,3 ± 10,9	77,5 ± 10,4	0,105

Dados apresentados em média ± desvio padrão. Grupo normotensos como controle comparados com o grupo hipertensos, o valor de P indica diferença entre os grupos estudados.

A tabela 4 abaixo, apresenta os voluntários divididos em quatro grupos de faixa etária. Em relação ao grupo de hipertensos, nota-se que a maioria que estão concentrados na faixa etária acima de 41 anos, representam 95,2% do total deste grupo. Outro ponto importante é que na categoria feminina, 77,7% estão acima dos 41 anos de idade, sendo relevante ressaltar que o grupo de voluntários é composto por principalmente mulheres.

Tabela 4. Faixa etária da população estudada, subdividas em 4 categorias.

Faixa etária	Hipertensos	Normotensos	Masculino	Feminino
N (Voluntários)	63 (53,4%)	55 (46,6%)	28 (23,7%)	90 (76,3%)
Idade				
20 a 30 anos	1 (1,6%)	8 (14,5%)	1 (3,6%)	8 (8,9%)
31 a 40 anos	2 (3,2%)	13 (23,6%)	3 (10,7%)	12 (13,3%)
41 a 50 anos	11 (17,5%)	15 (27,3%)	5 (17,9%)	21 (23,3%)
51 a 60 anos	10 (15,9%)	15 (27,3%)	6 (21,4%)	19 (21,1%)
61 a 70 anos	22 (34,9%)	3 (5,5%)	9 (32,1%)	16 (17,8%)
71 a 80 anos	15 (23,8%)	0 (0,0%)	3 (10,7%)	12 (13,3%)
> 81 anos	2 (3,2%)	1 (0,0%)	1 (3,6%)	2 (2,2%)

Dados apresentados em percentis, divididos em 4 categorias distintas: hipertensos, normotensos, masculino e feminino.

4.2 Marcadores do estresse oxidativo

Na figura 4 são apresentados dados dos marcadores antioxidantes dosados no soro dos voluntários. Em relação as defesas antioxidantes, observou-se que não houve diferença

significativa nas atividades das enzimas SOD, GST e na vitamina C, enquanto a atividade da CAT estava significativamente diminuída nos hipertensos quando comparada aos normotensos.

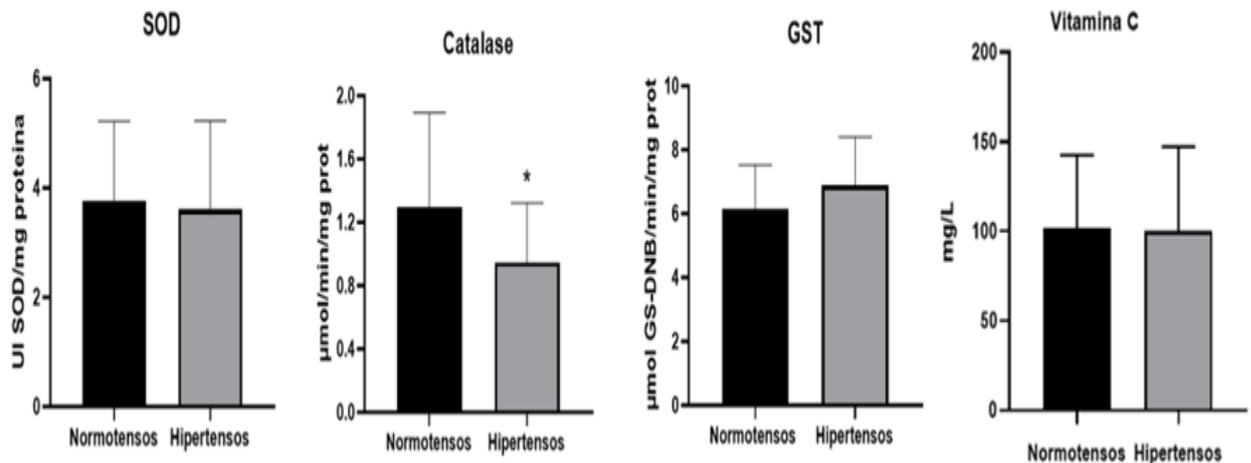


Figura 4. Marcadores antioxidantes indiretos no soro de hipertensos e normotensos: SOD, Superóxido dismutase; CAT, catalase; GST, glutatona reduzida e vitamina C. Os dados estão apresentados com média \pm desvio padrão, os quais foram submetidos ao teste T de Student. *Indica diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos estudados.

Na figura 5, são apresentados dados dos marcadores oxidantes indiretos dosados no soro dos voluntários. Em relação ao TBARs não houve diferença entre hipertensos e normotensos. Mas observou-se um aumento significativo de proteínas carboniladas (PCOs) no grupo dos hipertensos quando comparados ao grupo dos normotensos.

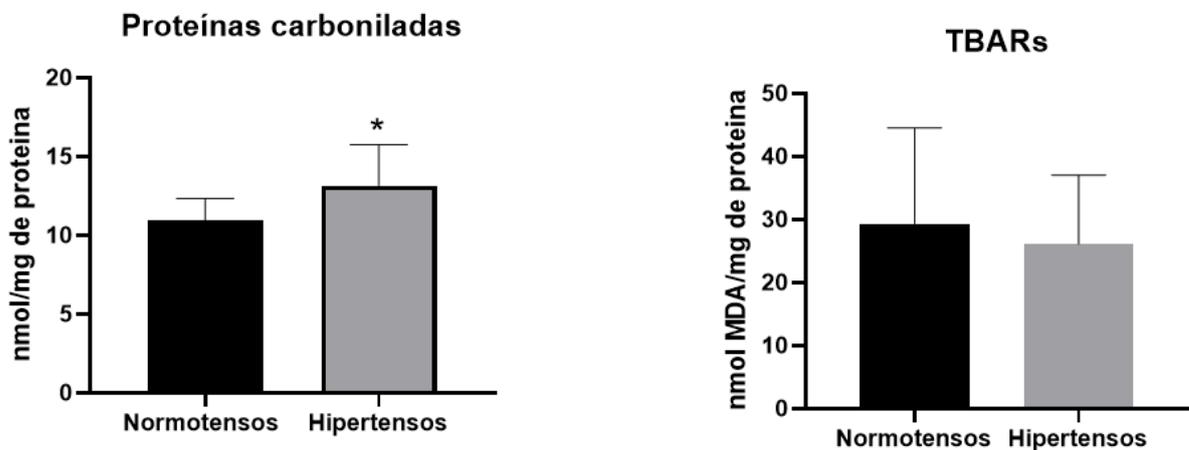


Figura 5. Marcadores oxidantes indiretos no soro de hipertensos e normotensos: Proteínas carboniladas e TBARs, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. *Indica diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos estudados.

4.3 Dosagem de imunoglobulina IgG anti-CMV

Na figura 6 são apresentados os dados da dosagem de IgG para CMV no soro. Nesse caso, todos os pacientes apresentaram ≥ 1.0 RU/mL, porém observou-se que houve uma diminuição da concentração do analito no grupo hipertensos comparados ao normotensos.

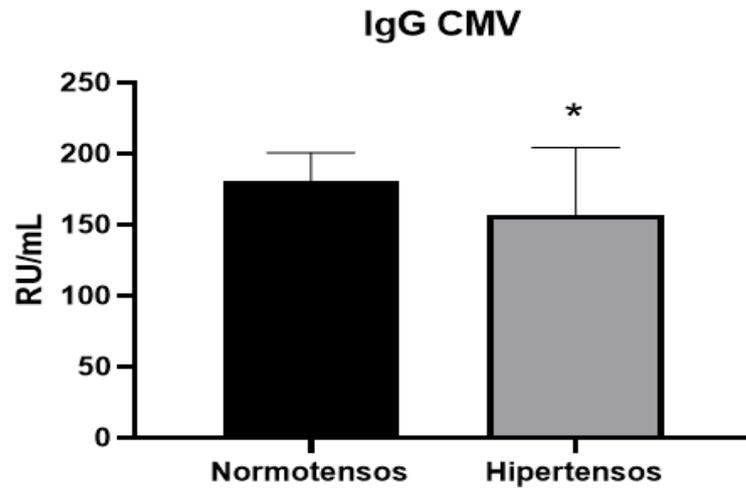


Figura 6. Dosagem de imunoglobulina IgG no soro de normotensos e hipertensos, os resultados foram apresentados em RU/mL. *Indica diferença estatística entre os grupos analisados ($P < 0,05$).

4.4 Dosagem de ácido úrico

Na figura 7, são apresentados os resultados das dosagens de ácido úrico, sendo expresso em mg/dl, demonstrando diferença entre os grupos avaliados. Diante disso, houve maior concentração do analito nos hipertensos comparativamente aos normotensos.

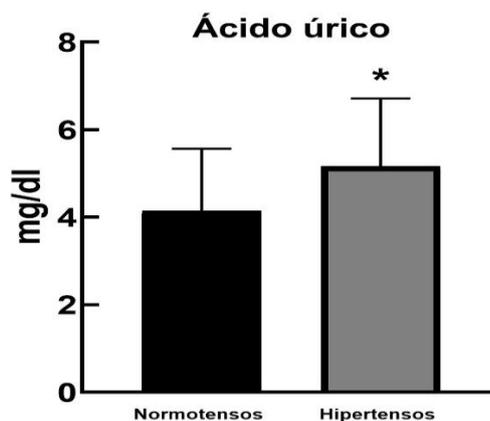


Figura 7. Dosagem de ácido úrico no soro de hipertensos e normotensos, os resultados foram apresentados em mg/dl. *Indica diferença estatística entre os grupos analisados ($P < 0,05$).

4.5 Correlação entre anticorpos e compostos antioxidantes nos hipertensos e normotensos

Foi realizado uma análise de correlação de todos os elementos oxidantes e antioxidantes com a concentração de anticorpos dosados em ambos os grupos (Figuras 8 e 9), mas somente a atividade de SOD e CAT apresentaram significâncias no grupo hipertensos, como se vê na tabela 5. Ademais, também foi correlacionado variáveis numéricas como a pressão arterial, frequência cardíaca e a idade, mas não houve significância. Em relação ao grupo normotensos, apenas o oxidante TBARs apresentou diferença estatística.

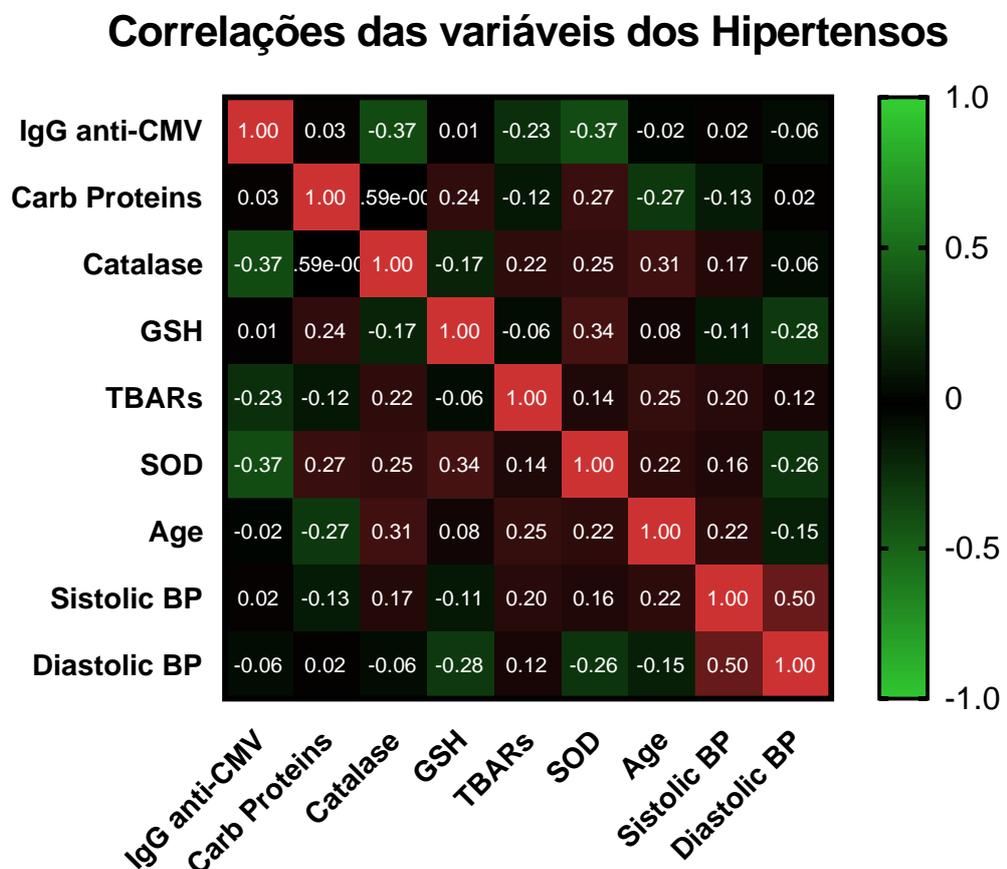


Figura 8. Gráfico estilo Heat map mostrando os valores de r Spearman na correlação da concentração de IgG anti-CMV e todas as variáveis analisadas nos pacientes hipertensos.

O gráfico mostra que quanto mais vermelho o quadrado de intersecção das variáveis analisadas mais próximo de 1 está o valor de r, e quanto mais verde, mais próximo de -1. BP – blood pressure (mmHg); SOD – superóxido dismutase (UI SOD/mg proteína); Catalase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína); Carb ptn – proteínas carboniladas (nmol/mg de proteína); GST – glutathiona S-transferase (μmol GS-DNB/min/mg proteína); Age – idade (anos); TBARs – ácido tiobarbitúrico (nmol MDA/mg de proteína).

Correlação das Variáveis dos Normotensos

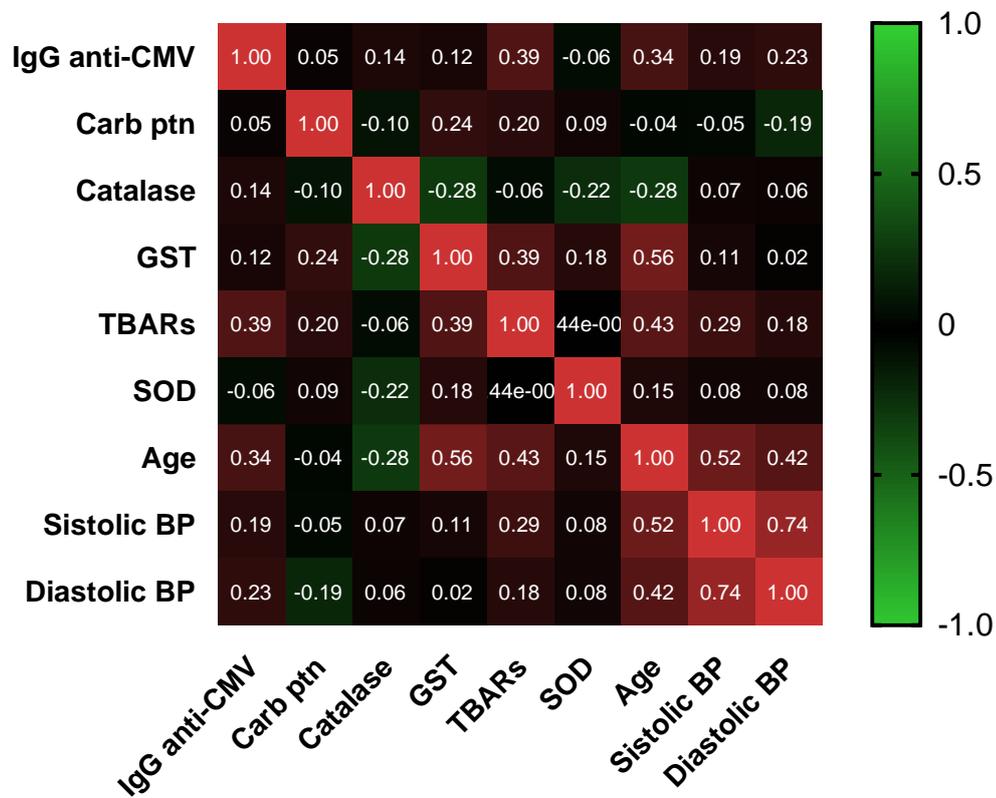


Figura 9. Gráfico estilo Heat map mostrando os valores de r Spearman na correlação da concentração de IgG anti-CMV e todas as variáveis analisadas nos pacientes normotensos.

O gráfico mostra que quanto mais vermelho o quadrado de intersecção das variáveis analisadas mais próximo de 1 está o valor de r, e quanto mais verde, mas próximo de -1. BP – blood pressure (mmHg); SOD – superóxido dismutase (UI SOD/mg proteína); Catalase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína); Carb ptn – proteínas carboniladas (nmol/mg de proteína); GST – glutathione S-transferase ($\mu\text{mol GS-DNB}/\text{min}/\text{mg}$ proteína); Age – idade (anos); TBARs – ácido tiobarbitúrico (nmol MDA/mg de proteína).

Tabela 5. Análise das correlações entre a concentração do anticorpo IgG anti-CMV *versus* marcadores do estresse oxidativo e variáveis numéricas apenas dos pacientes hipertensos (Pressão arterial, idade e frequência cardíaca).

Correlação	Valor de r	P
Marcadores do estresse oxidativo		
IgG anti-CMV x GSH	0,0116	0,9296
IgG anti-CMV x SOD	-0,3740	0,0030
IgG anti-CMV x Catalase	-0,3659	0,0040
IgG anti-CMV x TBARs	-0,2293	0,0755
IgG anti-CMV x Proteínas carboniladas	0,0275	0,8347

Variáveis numéricas

IgG anti-CMV x Idade	-0,0245	0,8512
IgG anti-CMV x P.A sistólica	0,1190	0,4056
IgG anti-CMV x P.A. diastólica	-0,0011	0,9937
IgG anti-CMV x Frequência cardíaca	-0,0883	0,5374

Dados apresentados em r e P das correlações no grupo hipertensos, o valor de P (< 0,05) indica diferença entre os as correlações realizadas.

Como se vê, na figura 10, a variável SOD apresentou uma correlação negativa com a concentração de anticorpos IgG anti-CMV, demonstrando que quanto maior a concentração de anticorpo menor é a concentração da atividade dessa enzima no soro. Em relação a outra variável, CAT, também apresentou uma correlação negativa, indicando uma ação oposta, quanto maior a concentração do anticorpo menor é a atividade da CAT.

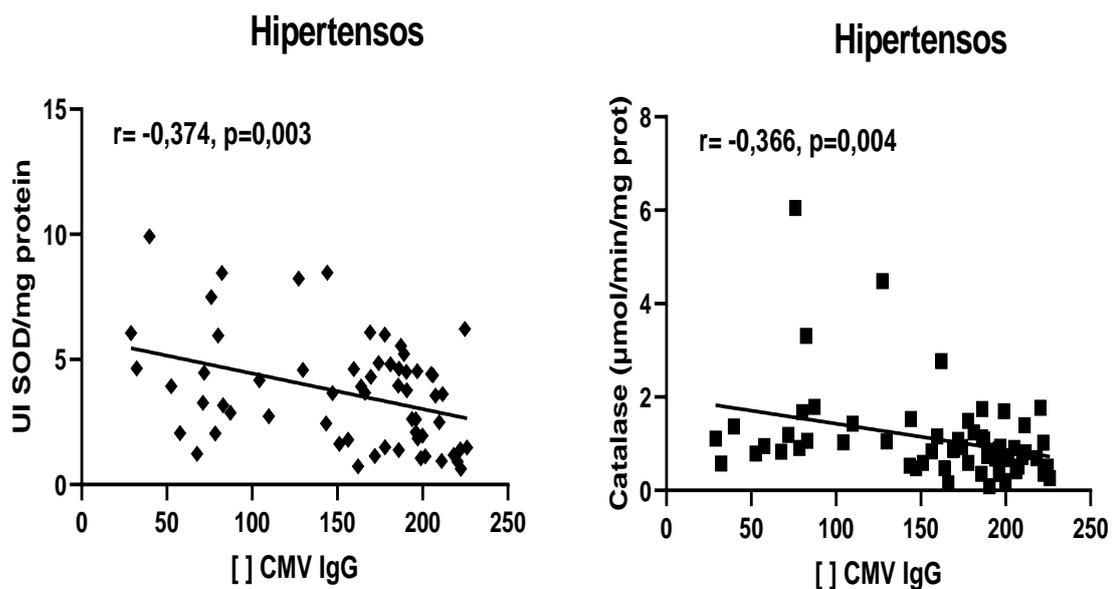


Figura 10. Análise de correlação na concentração de IgG CMV em hipertensos com marcadores antioxidantes: SOD e CAT. O valor coeficiente da correlação varia entre -1 e 1, sendo que um valor negativo indica uma correlação negativa.

De acordo com a figura 11, a correlação feita do TBARs nos normotensos, apresentou uma correlação positiva significativa com IgG anti-CMV, demonstrando que quanto maior a concentração de anticorpos IgG maior será a concentração do TBARs.

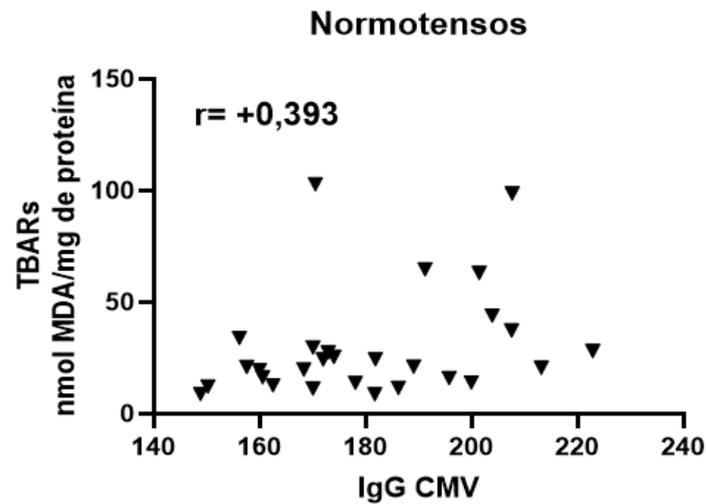


Figura 11. Análise de correlação na concentração de IgG CMV em normotensos com marcador oxidante TBARs. O valor coeficiente da correlação varia entre -1 e 1, sendo que um valor positivo indica uma correlação positiva.

Adicionalmente, conduziu-se uma nova análise de correlação, com todos os participantes, onde os voluntários normotensos e hipertensos foram divididos de acordo com a presença ou não de diabetes. Somente o antioxidante CAT demonstrou diferença significativa entre hipertensos com e sem diabetes, como evidenciado na figura 12, onde vimos uma redução deste antioxidante em pacientes hipertensos com diabetes, comparados aos hipertensos sem diabetes.

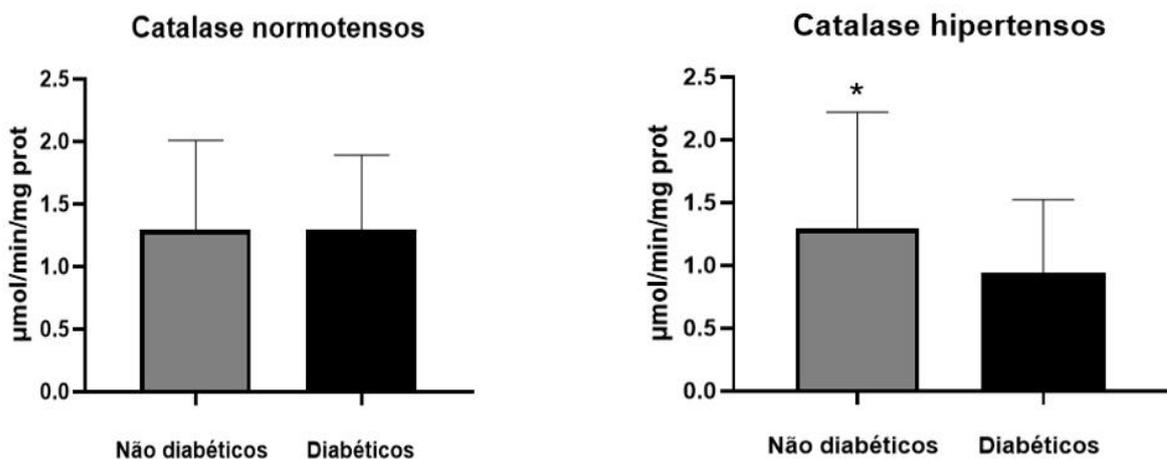


Figura 12. Resultados da análise de correlação entre normotensos diabéticos e não diabéticos; hipertensos diabéticos e não diabéticos. *Indica diferença estatística entre os grupos analisados ($P < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

Em primeira instância, nosso estudo caracterizou os participantes, sendo que em relação aos pacientes hipertensos, nossos dados demográficos, mostraram uma predominância do sexo feminino, correspondendo a 74,6% do total de hipertensos, sugerindo que, no grupo estudado, as mulheres foram mais acometidas com hipertensão. Um ponto muito relevante aos participantes hipertensos é a faixa etária. Cerca de 77,8% dos hipertensos e 54,4% das mulheres participantes estão acima dos 51 anos de idade, o que coincide com o período da menopausa e pós menopausa. Durante essa fase, estudos relatam (ZILBERMAN *et al.*, 2015; VISNIAUSKAS *et al.*, 2023) uma ligação direta entre a menopausa com a elevação da pressão arterial. Esse período se torna crítico para as mulheres, visto que hormônios que possuem efeito protetor, como o estrogênio diminuem, interferindo na síntese do NO, o que por sua vez influencia na regulação da pressão arterial. Outros fatores ainda não bem elucidados também influenciam na maior prevalência de hipertensão em mulheres no período pós menopausa.

Em continuidade nossos dados também sugeriram que a hipertensão está mais presente em indivíduos idosos, já que a população hipertensa estudada apresentou uma média de idade de 61,1 anos. De fato, a senilidade favorece o enrijecimento e a perda da complacência vascular, o que pode colaborar com o aumento da pressão arterial (BARROSO *et al.*, 2021). Outros fatores também podem estar envolvidos, como a presença de outras comorbidades, a menopausa, e o aumento do estresse oxidativo presentes com o avançar da idade. A média de idade do grupo normotenso foi de 44,4 anos, sendo significativamente menor do que a de hipertensos. Essa diferença de idade, se deve muito por conta da dificuldade em ter acesso a voluntários com idade acima de 51 anos que não apresentavam hipertensão.

De acordo com a Sociedade Brasileira de Hipertensão (SBH) aspectos socioeconômicos possuem forte influência na hipertensão, inclusive são considerados fatores de riscos, se destacando a renda familiar, menor escolaridade e moradia (BARROSO *et al.*, 2021). Nossos resultados demonstraram que indivíduos com maior grau de instrução e maior renda foram os menos acometidos pela hipertensão (6,34%). Tais dados corroboram com outras pesquisas que demonstram que conforme o grau de escolaridade aumenta há uma tendência na queda da média da pressão arterial (PESSUTO; CARVALHO, 1998; MENDES; MORAIS; GOMES, 2014). O aspecto que pode estar relacionado a esse fato é a melhora na qualidade da alimentação.

O CMV é considerado o vírus mais presente em seres humanos e sua distribuição geográfica se encontra em todo o mundo, podendo a soroprevalência chegar a 100% dependendo da região (GAYTANT *et al.*, 2002; JUNQUEIRA; SANCHÓ; SANTOS, 2008; HE

et al., 2023). Nossas análises demonstraram uma alta soroprevalência em ambos os grupos, visto que em todos os indivíduos que apresentaram sorologia reagente para imunoglobulina IgG anti-CMV. Essa alta prevalência encontrada em nosso trabalho coincide com outros estudos realizados, exemplificado por LOBATO-SILVA (2016) que constatou mais de 95% da presença do vírus no estado de Santa Catarina.

Uma das características clínicas do CMV é sua infecção assintomática, sendo que na prática médica o vírus possui impactos relevantes em casos específicos como transplantados, imunocomprometidos e na infecção congênita e perinatal (LERUEZ-VILLE *et al.*, 2020). Apesar dessas observações clínicas, o CMV permanece em latência durante toda a vida do hospedeiro, podendo ser reativado após estímulos (ROMKES *et al.*, 2016). Essa latência tem sido objetivo de estudo em vários ensaios clínicos, e tem sido comprovado que o vírus é capaz de promover processos inflamatórios por vários mecanismos como liberação de citocinas inflamatórias e desequilíbrio no *status redox* (JUNG; LEE, 2022; HE *et al.*, 2023; ZHEN *et al.*, 2023).

Em relação a atividade das enzimas antioxidantes, a SOD é reconhecida como importante antioxidante em razão da sua capacidade de catalização, age como sistema de defesa celular endógeno em situações de estresse oxidativo, visto que catalisa o radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio. Posteriormente o peróxido de hidrogênio sofre a ação de outros antioxidantes como a CAT, que é decomposto em água e oxigênio (YASUI; BABA, 2006). Nossos resultados demonstraram que não houve uma diferença significativa em sua atividade entre os dois grupos avaliados. Essa similaridade também ocorreu nos resultados da atividade da GST que exerce papel protetor nas células contra o estresse oxidativo e alterações em sua concentração pode ser indicativo de estresse oxidativo miocárdico (JUNIOR, *et al.*, 2001). Outro agente avaliado foi a concentração da vitamina C, que é considerada um antioxidante não enzimático, atuando contra o radical hidroxila (LOPERENA; HARRISON, 2017). Entretanto, em nossa análise não apresentou resultados expressivos.

Já em relação a CAT, verificamos uma diminuição da sua atividade no grupo hipertenso comparado ao normotenso. A CAT é considerada um importante antioxidante, tendo como função catalisar a redução do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio que possui ação preventiva a oxidação da GSH, que é um agente oxidante, e em situações de estresse oxidativo tem redução na sua atividade (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Outro ponto relevante sobre esse agente antioxidante, é que foi o único a apresentar variação quando excluímos os voluntários diabéticos e comparamos com os resultados anteriores. Nossos achados indicaram que o diabetes foi o fator responsável pela redução da atividade da CAT. A literatura já deixa

bem esclarecido que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese do diabetes, visto que esse desequilíbrio do status redox podem contribuir no desenvolvimento e progressão do diabetes (ASMAT; ABAD; ISMAIL, 2016).

A respeito dos marcadores oxidantes, é necessário compreender que a carbonilação de proteínas consiste em grupos carbonilas (aldeídos e cetonas) introduzidos na estrutura proteica. Essa carbonilação é usada para avaliar o estresse oxidativo de forma indireta. A formação de PCOs é comum na oxidação e sua análise permite quantificar o nível de estresse oxidativo (COLOMBO, et al., 2015; DONNE, et al., 2003). Nosso estudo demonstrou um aumento significativo nesse marcador no soro, sugerindo um quadro de estresse oxidativo no grupo dos hipertensos. Além disso, foi avaliado também a peroxidação lipídica que é a deterioração oxidativa de lipídios, mas em nosso ensaio não houve alterações relevantes nos grupos avaliados.

Quanto a dosagem do ácido úrico, nossos achados mostraram um aumento sérico no grupo dos hipertensos. O ácido úrico pode contribuir em atividades antioxidantes, mas quando presente no citoplasma celular em ambientes ácido/hidrofóbico se torna um agente oxidante, contribuindo para o estresse oxidativo, o que corrobora com nossos resultados no grupo hipertenso (LOPERENA; HARRISON, 2017; NDREPEPA, 2018). Além disso, um fator limitante desta análise, foi a dosagem de apenas 76 voluntários (48 hipertensos e 28 normotensos) em razão do volume insuficiente de soro.

Portanto, nossos resultados demonstraram um desequilíbrio do *status redox* no grupo hipertenso, visto que houve um decaimento das defesas antioxidantes, a CAT, e um aumento de agentes oxidantes, proteínas carboniladas. Isso vai ao encontro de estudos que afirmam que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia da hipertensão (MONTEZANO et al., 2015; LUANGMONKONG et al., 2018) e conseqüentemente causando uma exacerbação em processos inflamatórios que levam a formação de aterosclerose, apoptose de miócitos e agregação plaquetária (MONTEZANO et al., 2015; PINHEIRO; OLIVEIRA-PAULA, 2020). E o diabetes parece ser um fator importante para o declínio das defesas antioxidantes na hipertensão.

Já está bem estabelecido na literatura que, embora níveis elevados de EROs possam causar danos celulares irreparáveis (estresse oxidativo), em níveis baixos, as EROs são importantes moléculas de sinalização celular. O estresse oxidativo também pode contribuir com a exacerbação de infecções virais. Um trabalho publicado por Perera et al, 2022, demonstrou que o CMV utilizou uma via de sinalização de EROs para contribuir no estabelecimento e manutenção da latência viral. No entanto, em altas concentrações, as EROs tornaram-se um

sinal potente para reativação desse vírus. Dessa forma, em condições em que ocorre aumento do estresse oxidativo, como a hipertensão arterial, pode haver reativação do CMV latente, contribuindo com danos celulares.

Estudos recentes mostram uma correlação entre a presença de CMV com doenças cardiovasculares, por exemplo uma meta-análise publicada por WANG *et al.* (2016), que trouxe a análise de 5 publicações envolvendo mais de 11 mil participantes, sendo concluído uma correlação existente entre CMV e hipertensão. Esse estudo de meta-análise avaliou participantes de países como China, Israel e EUA, sendo que não existe nenhum trabalho na América do Sul onde se avalia a infecção por CMV como fator de risco para a hipertensão arterial. Inicialmente vimos que não houve correlação significativa entre os valores de PAS e PAD dos grupos normotensos e hipertensos com a concentração do anticorpo IgG anti-CMV dosado no soro dos participantes. No entanto, ao avaliarmos a correlação entre os marcadores oxidativos e antioxidantes com a concentração sérica de IgG anti-CMV nos hipertensos, verificamos uma correlação negativa, estatisticamente diferente apenas com a SOD e a CAT. Essa correlação sugere que quanto maior a concentração de anticorpos anti-CMV, menor são as atividades dessas enzimas antioxidantes. Além disso, nossos dados também apresentaram uma correlação positiva no grupo normotensos, indicando que quanto maior a concentração de anticorpos, maior será atividade oxidante. Portanto, é sugestivo que a presença de anticorpos CMV influenciam na redução da atuação de antioxidantes.

Um dos mecanismos que pode justificar essa relação foi discutido em um recente artigo publicado por nosso grupo, o qual hipotetiza a possível relação de receptores acoplados a proteína G viral, codificados pelo CMV nas células infectadas, com o desenvolvimento da hipertensão. Esses vGPCR possuem semelhança com receptores de quimiocinas e quando ativados, ativam o fator nuclear NFkB e pode contribuir com a geração de estresse oxidativo (BOMFIM *et al.*, 2023).

Um ponto fraco no nosso estudo foi a não dosagem da concentração viral do CMV nos participantes. A concentração do vírus pode estar relacionada com sua reativação e maior risco de desenvolver danos cardiovasculares. No entanto, tivemos limitações técnicas para realizar esse experimento.

Nosso estudo reforça, com outros trabalhos já publicados, que o CMV, mesmo sendo um vírus latente, pode promover injúrias ao longo do tempo, podendo estar relacionado com a geração de estresse oxidativo na hipertensão arterial.

6. CONCLUSÃO

A hipertensão arterial foi associada com o desequilíbrio do status redox, ou seja, aumento da atividade de oxidantes e diminuição de defesas antioxidantes. Não foi detectado correlação entre a concentração sérica de IgG anti-CMV e os valores de pressão arterial, no entanto vimos que o aumento de IgG anti-CMV está correlacionado com a diminuição das defesas antioxidantes em pacientes hipertensos. Dessa forma, sugerimos que o CMV pode contribuir com a geração de estresse oxidativo na hipertensão arterial.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, Abul; LICTMAN, Andrew; PILLAI, Shiv1. **Imunologia Básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

ADACHI, K.; XU, J.; ANK, B.; WATTS, D. *et al.* Cytomegalovirus urinary shedding in HIV-infected pregnant women and congenital cytomegalovirus infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 3, p. 405-413, 2017.

ADLER, Barbara; SINZGER, Christian. Endothelial cells in human cytomegalovirus infection: one host cell out of many or a crucial target for virus spread? **Thrombosis and Haemostasis**, v. 102, n. 12, p. 1057-1063, 2009.

AIRES, Margarida de Melo. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

AMIN, M.; STOWELL, J.; HENDLEY, W.; GARCIA, P. *et al.* CMV on surfaces in homes with young children: results of PCR and viral culture testing. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, p. 1-7, 2018.

ARVIN, A.; CAMPADELLI-FIUME, G.; MOCARSKI, E.; MOORE, P. *et al.* **Human herpesviruses: biology, therapy, and immunoprophylaxis**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

ASMAT, Ullah; ABAD, Khan; ISMAIL, Khan. Diabetes mellitus and oxidative stress — a concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 547-553, 2016.

AVCIOGLU, Fatma; BEHCET, Mustafa; KURTOGLU, Muhammet. Evaluation of Toxoplasma, Rubella, and Cytomegalovirus serological results in women of childbearing age. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 66, p. 789-793, 2020.

AYDIN, S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. **Peptides**, v. 72, p. 4-15, 2015.

BARBOSA, K.; COSTA, N.; ALFENAS, R.; PAULA, S. *et al.* Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Rev. Nutr.**, v. 23, n.4, p. 629-643, 2010.

BARROSO, W.; RODRIGUES, C.; BORTOLOTTI, L.; MOTA-GOMES, M. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BATES, Matthew; BRANTSAETER, Arne. Human cytomegalovirus (CMV) in Africa: a neglected but important pathogen. **Journal of Virus Eradication**, v. 2, n. 3, p. 136-142, 2016.

BOECKH, Michael; GEBALLE, Adam. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 5, p. 1673-1680, 2011.

BOMFIM, G. F.; CAU, S. B.; BRUNO, A. S.; FEDOCE, A. G. *et al.* Hypertension: a new treatment for an old disease? Targeting the immune system. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 12, p. 2028-2048, 2019.

BOMFIM, G.; PRIVIERO, F.; POOLE, E.; TOSTES, R. *et al.* Cytomegalovirus and cardiovascular disease: a hypothetical role for viral G protein-coupled receptors in hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 36, n. 9, p. 471-480, 2023.

BONALUMI, S.; TRAPANESE, A.; SANTAMARIA, A.; D'EMIDIO, L. *et al.* Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature. **Journal of prenatal medicine**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2011.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 7, n. 72, p. 248-254, 1976.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol.**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CAPOSIO, Patrizia; ORLOFF, Susan; STREBLOW, Daniel. The role of cytomegalovirus in angiogenesis. **Virus Research**, v. 157, n. 2, p. 204-211, 2011.

CERQUEIRA, Nereide Freire; YOSHIDA, Winston Bonetti. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, p. 417-423, 2002.

CHATTERJEE, Shampa; FISHER, Aron. Mechanotransduction in the endothelium: role of membrane proteins and reactive oxygen species in sensing, transduction, and transmission of the signal with altered blood flow. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 6, p. 899-913, 2014.

COLOMBO, G.; CLERICI, M.; GARAVAGLIA, M.; GIUSTARINI, D. *et al.* A step-by-step protocol for assaying protein carbonylation in biological samples. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v. 1019, p. 178-190, 2016.

DALLE-DONNE, I.; GIUSTARINI, D.; COLOMBRO, R.; ROSSI, R. *et al.* Protein carbonylation in human diseases. **Trends Mol Med**, v. 9, n. 4, p. 169-176, 2003.

EZHILARASAN, Devaraj. Oxidative stress is bane in chronic liver diseases: clinical and experimental perspective. **Arab Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 2, p. 56-64, 2018.

FARIA, A.; SILVA, I.; ALMEIDA, R.; SILVA, S. *et al.* Seroprevalence of herpes virus associated with the presence and severity of oral mucositis in children diagnosed with acute lymphoid leukemia. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 43, n. 4, p. 298-303, 2014.

FEBRASGO. **Citomegalovirus e gravidez**. São Paulo: FEBRASGO, 2021.

FERREIRA, A. L.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FRANCO, C.; SCIATTI, E.; FAVERO, G.; BONOMINI, F. *et al.* Essential Hypertension and Oxidative Stress: Novel Future Perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 22, p. 14489, 2022.

GARGOURI, J.; ELLEUCH, H. ; KARRAY, H. ; REKIK, H. *et al.* Prevalence of anti-CMV antibodies in blood donors in the Sfax region (value in blood transfusion). **La Tunisie Médicale**, v. 78, n. 8-9, p. 512-517, 2000.

GAYTANT, M.; STEEGERS, E.; SEMMEKROT, B.; MERKUS, H. *et al.* Congenital cytomegalovirus infection: review of the epidemiology and outcome. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 57, n. 4, p. 245-256, 2002.

GRAHAME-CLARKE, C.; CHAN, N.; ANDREW, D.; RIDGWAY, G. *et al.* Human cytomegalovirus seropositivity is associated with impaired vascular function. **Circulation**, v. 108, n. 6, p. 678-683, 2003.

GRIFFITHS, Paul; BARANIAK, Ilona; REEVES, Matt. The pathogenesis of human cytomegalovirus. **The Journal of Pathology**, v. 235, n. 2, p. 288-297, 2015.

GRIFFITHS, Paul; REEVES, Matthew. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 12, p. 759-773, 2021.

GUERRA, A.; SIRAVENHA, L. ; LAURENTINO, R. ; FEITOSA, R. *et al.* Seroprevalence of HIV, HTLV, CMV, HBV and rubella virus infections in pregnant adolescents who received care in the city of Belém, Pará, Northern Brazil. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 18, n. 1, p. 169, 2018.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, p. 7130-7139, 1974.

HALL, John. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HAMILTON, E.; ALLEN, N.; MENTZER, A.; LITTLEJOHNS, T. *et al.* Human cytomegalovirus and risk of incident cardiovascular disease in United Kingdom Biobank. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 225, n. 7, p. 1179-1188, 2022.

HARGETT, Danna; SHENK, Thomas E. Experimental human cytomegalovirus latency in CD14+ monocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 46, p. 20039-20044, 2010.

HE, H.; TAN, Y.; TANG, Z. ; WANG, L. *et al.* ADAM9: A regulator between HCMV infection and function of smooth muscle cells. **Journal of Medical Virology**, v. 95, n. 1, p. e28352, 2023.

HUGHES, B.; CLIFTON, R.; ROUSE, D.; SAADE, G. *et al.* A trial of hyperimmune globulin to prevent congenital cytomegalovirus infection. **New England Journal of Medicine**, v. 385, n. 5, p. 436-444, 2021.

JOHNSON, Julie; ANDERSON, Brenna; PASS, Robert. Prevention of maternal and congenital cytomegalovirus infection. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 55, n. 2, p. 521, 2012.

JUNG, Seang-Hwan; LEE, Kyung-Tae. Atherosclerosis by Virus Infection — A Short Review. **Biomedicines**, v. 10, n. 10, p. 2634, 2022.

JUNIOR, L.; HOEHR, N.; VELLASCO, A.; KUBOTA, L. *et al.* Antioxidant system involving the glutathione metabolic cycle associated to electroanalytical methods in the oxidative stress evaluation. **Quím. Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

JUNQUEIRA, Jader Joel; SANCHO, Talita Marçal; SANTOS, Vera Aparecida dos. Citomegalovírus: revisão dos aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e de tratamento. **NewsLab**, v. 86, p. 88-104, 2008.

KAMEL, N.; METWALLY, L.; GOMAA, N.; AHMED, W. *et al.* Primary cytomegalovirus infection in pregnant Egyptian women confirmed by cytomegalovirus IgG avidity testing. **Medical Principles and Practice**, v. 23, n. 1, p. 29-33, 2013.

LEE, S.; AFFANDI, J.; WATERS, S.; PRICE, P. Human Cytomegalovirus Infection and Cardiovascular Disease: Current Perspectives. **Viral Immunology**, v. 36, n. 1, p. 13-24, 2023.

LERUEZ-VILLE, M.; FOULON, I.; PASS, R.; VILLE, Y. *et al.* Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 223, n. 3, p. 330-349, 2020.

LIOCHEV, Stefan I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 60, p. 1-4, 2013.

LOBATO-SILVA, D. F. Citomegalovírus: epidemiologia baseada em dados de soroprevalência. **Revista Pan-Amazônia de Saúde**, v.7, p. 213-219, 2016.

LOPERENA, Roxana; HARRISON, David. Oxidative stress and hypertensive diseases. **Medical Clinics**, v. 101, n. 1, p. 169-193, 2017.

LUANGMONKONG, T.; SURIGUGA, SU.; MUTSAERS, H.; GROOTHUIS, G. *et al.* Targeting oxidative stress for the treatment of liver fibrosis. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, v. 175, p. 71–102, 2018.

MANSFIELD, S.; GRIELBL, M.; GUTKNECHT, M.; COOK, C. *et al.* Sepsis and cytomegalovirus: foes or conspirators? **Medical Microbiology and Immunology**, v. 204, p. 431-437, 2015.

MATOS, Sócrates; MEYER, Roberto; LIMA, Fernanda. Seroprevalence of cytomegalovirus infection among healthy blood donors in Bahia State, Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 45-49, 2010.

MENDES, Gisele; MORAES, Clayton; GOMES, Lucy. Prevalência de hipertensão arterial sistêmica em idosos no Brasil entre 2006 e 2010. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 9, n. 32, p. 273-278, 2014.

MIKOLAJCZYK, T.; SCZEPANIAK, P.; VIDLER, F.; MAFFIA, P. *et al.* Role of inflammatory chemokines in hypertension. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 223, p.107799, 2021.

MISRA, H.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

MONTERA, Vanessa dos Santos Pereira. Benefícios dos nutrientes antioxidantes e seus cofatores no controle do estresse oxidativo e inflamação na insuficiência cardíaca. **Revista da SOCERJ**, v. 20, n. 1, p. 20-27, 2007.

MONTEZANO, A.; DULAK-LIS, M.; TSIROPOULOU, S.; HARVEY, A. *et al.* Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 5, p. 631-641, 2015.

MURRAY, Matthew J.; PETERS, Nicholas E.; REEVES, Matthew B. Navigating the host cell response during entry into sites of latent cytomegalovirus infection. **Pathogens**, v. 7, n. 1, p. 30, 2018.

NDREPEPA, Gjin. Uric acid and cardiovascular disease. **Clin Chim Acta.**, v. 484, p. 150-163, 2018.

NELSON, D. P.; KIESOV, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical Biochemistry**, v.49, n. 2, p.474-478, 1972.

PERERA, Marianne R.; SINCLAIR, John H. The Human Cytomegalovirus β 2. 7 Long Non-Coding RNA Prevents Induction of Reactive Oxygen Species to Maintain Viral Gene Silencing during Latency. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11017, 2022.

PESCH, Megan; SAUNDERS, Natalie; ABDELNABI, Samia. Cytomegalovirus infection in pregnancy: prevention, presentation, management and neonatal outcomes. **Journal of Midwifery & Women's Health**, v. 66, n. 3, p. 397-402, 2021.

PESSUTO, Janete; CARVALHO, Emília. Fatores de risco em indivíduos com hipertensão arterial. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 6, p. 33-39, 1998.

PINHEIRO, Lucas C.; OLIVEIRA-PAULA, Gustavo H. Sources and effects of oxidative stress in hypertension. **Current Hypertension Reviews**, v. 16, n. 3, p. 166-180, 2020.

RAFF, Hershel; LEVITZKY, Michael. **Fisiologia Médica: Uma Abordagem Integrada**. Porto Alegre: AMGH, 2012.

ROE, J. H. Chemical determination of ascorbic, dehydro ascorbic and diketogulonic acids. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 1, p. 115-139, 1954.

RÖMKENS, T.; BULTE, G. ; NISSEN, L. ; DRENTH, J. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: A systematic review. **World journal of gastroenterology**, v. 22, n. 3, p. 1321, 2016.

SAITO, T.; HASEGAWA, Y.; ISHIGAKI, Y.; YAMADA, T. *et al.* Importance of endothelial NF- κ B signalling in vascular remodelling and aortic aneurysm formation. **Cardiovascular Research**, v. 97, n. 1, p. 106-114, 2013.

SCHOLZ, M.; CINATL, J.; GROSS, V.; VOGEL, J. *et al.* Impact of oxidative stress on human cytomegalovirus replication and on cytokine-mediated stimulation of endothelial cells1. **Transplantation**, v. 61, n. 12, p. 1763-1770, 1996.

SELYE, Hans. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. **Canadian Medical Association Journal**, v. 115, n. 1, p. 53, 1976.

SIES, Helmut; BERNDT, Carsten; JONES, Dean P. Oxidative stress. **Annual Review of Biochemistry**, v. 86, p. 715-748, 2017.

SILVEIRA, Leonardo R. Considerações críticas e metodológicas na determinação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em células musculares durante contrações. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, p. 812-822, 2004.

SINGH, Mukesh; MENSAH, George; BAKRIS, George. Pathogenesis and clinical physiology of hypertension. **Cardiology Clinics**, v. 28, n. 4, p. 545-559, 2010.

SOARES, Sylvania França da Silva; DONATTI, Teresinha Lermen; SOUTO, Francisco José Dutra. Serological markers of viral, syphilitic and toxoplasmic infection in children and teenagers with nephrotic syndrome: case series from Mato Grosso State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 499-504, 2014.

SÖDERBERG-NAUCLÉR, Cecilia; FISH, Kenneth; NELSON, Jay. Reactivation of latent human cytomegalovirus by allogeneic stimulation of blood cells from healthy donors. **Cell**, v. 91, n. 1, p. 119-126, 1997.

STREBLOW, D.; DUMORTIER, J.; MOSES, A.; ORLOFF, S. *et al.* Mechanisms of cytomegalovirus-accelerated vascular disease: induction of paracrine factors that promote angiogenesis and wound healing. **Human Cytomegalovirus**, v. 325, p. 397-415, 2008.

TAN, J.; REN, J.; FAN, L.; WEI, Y. *et al.* Genetic Predisposition of Anti-Cytomegalovirus Immunoglobulin G Levels and the Risk of 9 Cardiovascular Diseases. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 12, n. 884298, 2022.

VISNIAUSKAS, B.; KILANOWSKI-DOROH, I.; OGOLA, B.; MCNALLY, A. *et al.* Estrogen-mediated mechanisms in hypertension and other cardiovascular diseases. **Journal of human hypertension**, v. 37, n. 8, p. 609-618, 2023.

VOMASKE, J.; MELNYCHUK, R.; SMITH, P.; POWELL, J. *et al.* Differential ligand binding to a human cytomegalovirus chemokine receptor determines cell type-specific motility. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 2, 2009.

VOSSSEN, R. C. ; PERSOONS, M. C. ; DRUNEN, M. E. ; BRUGGEMAN, C. A. *et al.* Intracellular thiol redox status affects rat cytomegalovirus infection of vascular cells. **Virus Research**, v. 48, n. 2, p. 173-183, 1997.

WANG, Z.; PENG, X.; LI, M. ; JIN, F. *et al.* Is human cytomegalovirus infection associated with essential hypertension? A meta-analysis of 11,878 participants. **Journal of Medical Virology**, v. 88, n. 5, p. 852-858, 2016.

WHITWORTH, Judith A. 2003 World Health Organization. World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 21, n. 11, p. 1983-1992, 2003.

WHO. World Health Organization. **Hypertension**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/hypertension#tab=tab_1>. Acesso em: 17 jan. 2023.

YASUI, K.; BABA, A. Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. **Inflammation Research**, v. 55, p. 1-5, 2006.

YATES, Tom A.; GRIFFITH, Gareth J.; MORRIS, Tim T. Human cytomegalovirus and risk of incident cardiovascular disease in UK Biobank. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 225, n. 7, p. 1301-1302, 2022.

YINON, Yoav; FARINE, Dan; YUDIN, Mark. Screening, diagnosis, and management of cytomegalovirus infection in pregnancy. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 65, n. 11, p. 736-743, 2010.

ZAGO, Anderson; ZANESCO, Angelina. Óxido nítrico, doenças cardiovasculares e exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, p. e264-e270, 2006.

ZHEN, J.; ZENG, M. ; ZHENG, X. ; QIU, H. *et al.* Human cytomegalovirus infection is associated with stroke in women: the US National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004. **Postgraduate Medical Journal**, v. 98, n. 1157, p. 172-176, 2022.

ZILBERMAN, J. ; CERESO, G. ; SUELDO, M. ; FERNANDEZ-PÉREZ, C. *et al.* Association between hypertension, menopause, and cognition in women. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 17, n. 12, p. 970-976, 2015.

8. ARTIGO

RELAÇÃO DA INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS COM O ESTRESSE OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL¹

ROLE OF CYTOMEGALOVIRUS, OXIDATIVE STRESS AND
HYPERTENSION

Elioelsio S. Gonçalves²; Gisele F. Bomfim³

² Biomédico especialista em Hematologia clínica e mestrando em Ciências em Saúde pelo PPGCS campus Sinop-MT.

³ Professora Associada II da Universidade Federal de Mato Grosso campus Sinop-MT e Visiting Professor na University of South Carolina – EUA.

RESUMO: As doenças cardiovasculares (DCVs) são consideradas a maior causa do número de mortes no mundo. Possuem diversos fatores de risco, sendo o principal a hipertensão arterial sistêmica (HAS). Evidências apontam que infecções virais estão associadas com o aumento do risco de DCVs maiores, como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, entre outras. O citomegalovírus (CMV) é um herpesvírus com prevalência de cerca de 80% no Brasil e que pode afetar diretamente as células endoteliais causando disfunção endotelial e contribuindo com o desenvolvimento de DCVs. Uma das causas associadas a reativação do CMV é o estresse oxidativo, o qual encontra-se aumentado na hipertensão arterial. Em vista disso, o objetivo desse estudo foi avaliar a associação entre a infecção por CMV e o estresse oxidativo em pacientes hipertensos. Ao total 118 pessoas participaram dessa pesquisa, 63 hipertensos e 55 normotensos. A pesquisa foi realizada em Unidades Básicas de Saúde de Sinop-MT e na Universidade Federal de Mato Grosso, e teve a aprovação do Comitê de ética sob o número do protocolo 5.711.138. Foram considerados hipertensos os indivíduos que apresentavam pressão arterial sistólica acima de 140mmHg ou diastólica acima de 90 mmHg ou ainda se possuíam o diagnóstico clínico e faziam uso de medicamento anti-hipertensivo. Inicialmente foram coletados dados demográficos, parâmetros pressóricos, bem como amostras sanguíneas, para posterior análise. A população hipertensa estudada era composta mais por mulheres (74,6%), com idade média de 61,1 anos, pressão arterial sistólica de 140,6 mmHg e diastólica de 78,4 mmHg. Apenas 6,3% possuíam ensino superior, a taxa de analfabetismo foi de 12,7% e 77,8% possuíam uma renda familiar de até dois salários-mínimos. Quanto as análises, foi detectado a presença de IgG anti-CMV no soro de todos os participantes desse estudo, no entanto o grupo hipertenso apresentou níveis mais baixos de anticorpos específicos *versus* os normotensos. Foi constatado um desequilíbrio dos marcadores indiretos do estresse oxidativo, sendo que houve redução significativa da atividade da catalase e aumento da atividade das proteínas carboniladas no grupo hipertensos comparado aos normotensos. Os pacientes hipertensos foram também divididos em relação a presença e ausência de diabetes, e verificamos que a ausência do fator diabetes aumentou os níveis do antioxidante CAT no soro dos

participantes. Portanto, a hipertensão arterial está associada com o desequilíbrio do *status* redox, sendo sugestivo que as alterações presentes nas atividades enzimáticas oxidativas tem relação com a concentração de anticorpos IgG anti-CMV.

Palavras-chave: Hipertensão arterial; citomegalovírus; estresse oxidativo.

ABSTRACT: Cardiovascular diseases (CVDs) are considered to be the biggest cause of death in the world. There are several risk factors, the main one being systemic arterial hypertension (SAH). Evidence shows that viral infections are associated with an increased risk of major CVDs, such as myocardial infarction and stroke, among others. Cytomegalovirus (CMV) is a herpesvirus with a prevalence of around 80% in Brazil and which can directly affect endothelial cells, causing endothelial dysfunction and contributing to the development of CVDs. One of the causes associated with CMV reactivation is oxidative stress, which is increased in hypertension. The aim of this study was to assess the association between CMV infection and oxidative stress in hypertensive patients. A total of 118 people took part in this study, 63 hypertensive and 55 normotensive. The research was carried out in the Basic Health Units of Sinop-MT and at the Federal University of Mato Grosso, and was approved by the Ethics Committee under protocol number 5.711.138. Individuals with systolic blood pressure above 140 mmHg or diastolic blood pressure above 90 mmHg or if they had a clinical diagnosis and were taking antihypertensive medication were considered to be hypertensive. Demographic data, blood pressure parameters and blood samples were initially collected for later analysis. The hypertensive population studied was made up more of women (74.6%), with an average age of 61.1 years, systolic blood pressure of 140.6 mmHg and diastolic blood pressure of 78.4 mmHg. Only 6.3% had higher education, the illiteracy rate was 12.7% and 77.8% had a family income of up to two minimum wages. As for the analyses, the presence of anti-CMV IgG was detected in the serum of all the participants in this study, although the hypertensive group had lower levels of specific antibodies than the normotensive group. An imbalance of indirect markers of oxidative stress was found, with a significant reduction in catalase activity and an increase in the activity of carbonylated proteins in the hypertensive group compared to the normotensive group. The hypertensive patients were also divided according to the presence and absence of diabetes, and we found that the absence of diabetes increased the levels of the antioxidant CAT in the serum of the participants. Therefore, hypertension is associated with an imbalance in redox status, suggesting that the alterations in oxidative enzyme activity are related to the concentration of IgG anti-CMV antibodies.

Keywords: Hypertension; cytomegalovirus; oxidative stress.

Introdução

O citomegalovírus humano (CMV) pertence à família dos *Herpesviridae* e a subfamília dos β -*Herpesviridae*. É constituído por fita

dupla de DNA e considerado o maior entre os vírus humanos, tendo aproximadamente 230 kb de tamanho. O seu genoma é envolvido por um capsídeo icosaédrico com camadas de proteínas e bicamada lipídica onde se encontram as

glicoproteínas virais (BOECKN; GEBALLE, 2011).

O citomegalovírus humano (CMV) está distribuído em todo o mundo, sendo considerado o vírus mais prevalente entre os seres humanos, com uma soroprevalência em adultos variando de 40% a 100% (MURRAY; PETERS; REEVES, 2018). Estudos em diferentes regiões, como na África, indicaram uma média de 88,3% de soroprevalência positiva (BATES; BRANTSAETER, 2016), e em outros locais, como na Tunísia, 97% da população estudada apresentou IgG para o CMV (GARGOURI et al., 2000).

No Brasil, a prevalência também é semelhante, com variações regionais: no norte, um estudo realizado com 324 grávidas no estado do Pará, constatou a presença de 96,3% de IgG anti-CMV (GUERRA et al., 2018), e no Sul e Sudeste, taxas de prevalência de até 95% foram observadas em estudos conduzidos em Santa Catarina, com valores de 78,7% e 84,8% no Rio de Janeiro e São Paulo, respectivamente (LOBATO-SILVA, 2016). Esses dados reforçam a alta prevalência do CMV, caracterizando-o como um problema de saúde pública global (SOARES; DONATTI; SOUTO, 2014; BEZERRA, 2021).

A alta prevalência se encontra diretamente associada à facilidade da transmissão viral, que ocorre por meio de fluídos corporais, como secreções genitais, sangue, leite materno e transplante de órgãos (BOECKN; GEBALLE, 2011). As crianças são importantes vetores na cadeia de transmissão, visto que excretam o vírus por urina e saliva por tempo indeterminado. Na fase adulta, a transmissão ocorre principalmente por via sexual (YINON; FARINE; YUDIN, 2010; JOHNSON; ANDERSON; PASS, 2012).

O CMV tem três subtipos de infecção, sendo a infecção primária (aguda) a primeira exposição ao vírus, mediada por glicoproteínas virais que interagem com receptores celulares do hospedeiro, como 3ntegrinas e receptores de fatores de crescimento (BOECKN; GEBALLE, 2011; GRIFFITHS; REEVES, 2021). A infecção geralmente afeta macrófagos, fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, causando sintomas como mal-estar e febre, embora a maioria dos infectados seja assintomática (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021). Após a infecção aguda, o vírus entra na fase latente, onde persiste por longos períodos em monócitos, macrófagos e células dendríticas, utilizando

mecanismos que aumentam a sobrevivência celular e permitem sua permanência no organismo (BOECKN; GEBALLE, 2011; MURRAY; PETERS; REEVES, 2018).

Por último a reativação, que pode ser desencadeada por aumento de citocinas inflamatórias (HARGETT; SHENK, 2010), imunodeficiência ou estresse agudo (JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008; ROMKES et al., 2016), sendo que todos esses processos estão intrinsecamente envolvidos com processos inflamatórios. De fato, a inflamação pode ser um importante mecanismo para reativação do vírus que permanecia latente (BOECKN, GEBALLE, 2011).

A investigação por CMV na prática médica só possui importância em casos específicos, visto que a maioria dos casos em imunocompetentes não apresentam sintomatologia, podendo apenas surgir manifestações clínicas semelhantes à mononucleose (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021). Entretanto, em alguns casos pontuais como na gestação, pode ocorrer a transmissão vertical que é a passagem do vírus para a criança, sendo denominado de infecção congênita e perinatal que pode levar o acometimento do feto, visto que o vírus pode invadir o tecido do sistema nervoso central, podendo

promover alterações como anomalias cerebrais, microcefalia, perda auditiva neurossensorial e visual (PESCH; SAUNDERS; ABDELNABI, 2021).

Outro grupo que estão vulneráveis são os pacientes imunossuprimidos, como os portadores de HIV ou transplantados, que estão mais propensos a complicações graves, afetando órgãos como retina, fígado e pulmões, isso pode ocorrer por meio da reativação viral (JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008).

Diante dessa descrição, a investigação fisiopatológica dos efeitos da infecção por CMV em diferentes órgãos se mostra muito importante, sendo que iremos focar aqui na relação entre o CMV e as DCVs, como a hipertensão arterial.

Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é um distúrbio que é considerado o principal fator de risco para DCVs, condição responsável por uma a cada três mortes no mundo (WHO, 2003). Quando persistente, a hipertensão pode contribuir para o desenvolvimento de alterações nos vasos sanguíneos renais, cardíacos e cerebrais, resultando em aumento na incidência de insuficiência renal, coronariopatia, insuficiência cardíaca e

acidente vascular cerebral, ou seja, se tornando um importante fator de risco para DCVs (AVC) (HALL, 2017; BOMFIM et al., 2019).

Essa condição afeta mais de 1 bilhão de pessoas no mundo, com destaque para países socioeconomicamente vulneráveis (WHO, 2023). No Brasil, cerca de 32,3% da população apresenta hipertensão, com aumento significativo na prevalência com a idade, refletindo diretamente nas taxas de mortalidade por DCVs (BARROSO et al., 2021).

Fisiologicamente, a pressão arterial é determinada pela interação entre o débito cardíaco, a resistência periférica e a capacidade elástica da aorta (AIRES, 2012). O endotélio vascular desempenha papel crucial na regulação do tônus vascular e na vasodilatação, por meio da liberação de substâncias como o óxido nítrico (NO), (ZAGO; ZANESCO, 2006). No entanto, a hipertensão crônica compromete a função endotelial e a síntese de NO, levando a uma vasoconstrição excessiva e contribuindo para danos nos vasos sanguíneos, especialmente nos rins, coração e cérebro (HALL, 2017).

Outro fator que corrobora com essa situação é o estresse oxidativo, caracterizado pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs),

como o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio, que danificam estruturas celulares essenciais, como mitocôndrias e núcleos (SIES; BERNDT; JONES, 2017), promovendo alterações no endotélio e contribuindo para o desenvolvimento de DCVs (AIRES, 2012; LOPERENA; HARRISON, 2017).

Em condições fisiológicas, as EROs desempenham papel na defesa imunológica e na regulação do tônus vascular, mas em níveis elevados, aumentam a vasoconstrição e promovem inflamação, acelerando o desenvolvimento de aterosclerose (MONTEZANO et al., 2015), isso ocorre pela diminuição da biodisponibilidade do NO que favorece a hipertensão arterial (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002; PINHEIRO; OLIVEIRA-PAULA, 2020). Portanto, o estresse oxidativo está envolvido no remodelamento cardíaco, afetando a estrutura e função do miocárdio, induzindo apoptose de miócitos e hipertrofia do músculo cardíaco (MONTERA, 2007).

A hipertensão também pode ser exacerbada por fatores externos, como o estresse de cisalhamento e infecções virais, incluindo o citomegalovírus (CMV), que potencialmente contribui para o aumento do estresse oxidativo e agravamento da condição hipertensiva.

CMV e Hipertensão Arterial

A infecção pelo CMV tem sido associada a várias patologias, incluindo as DCVs, como hipertensão e aterosclerose. Estudos demonstram que a infecção por CMV pode afetar células endoteliais, ativando mecanismos inflamatórios locais que contribuem para o desenvolvimento dessas condições (JUNQUEIRA; SANCHO; SANTOS, 2008; HE et al., 2023). Ensaios clínicos demonstram que indivíduos com infecção ativa ou latente por CMV e a presença de IgG anti-CMV são fatores de predisposição para eventos cardiovasculares (WANG et al., 2016; ZHEN et al., 2022).

Além disso, a infecção pelo CMV pode gerar estresse celular e fisiológico, promovendo danos vasculares, desregulação no metabolismo de lipídios, na síntese de óxido nítrico e indução de apoptose. A ativação de processos inflamatórios e a formação de placas de atheroma também são mecanismos implicados no desenvolvimento de DCVs associadas ao CMV (GRAHAME-CLARKE et al., 2003; HE et al., 2023).

Experimentos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que o estresse oxidativo está relacionado ao tropismo do CMV por células endoteliais. A redução dos

níveis do antioxidante glutathione favorece a infecção viral e a ativação de citocinas inflamatórias, o que pode aumentar a replicação viral e o agravamento de condições associadas ao CMV, como a hipertensão arterial (VOSSEN et al., 1997; SCHOLZ et al., 1996).

Tanto a hipertensão quanto a infecção por CMV são doenças com alta prevalência em todo o mundo e ambas estão relacionadas com processos inflamatórios. Há alguns estudos que demonstram essa correlação, a partir do ponto que algumas infecções virais como o CMV, pode se tornar um fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose, e este em conjunto com a hipertensão, são fatores relevantes para o acometimento de DCVs. Entretanto, apesar da falta de esclarecimento em relação aos mecanismos, acredita-se que o vírus promove alterações, principalmente nos fatores inflamatórios e oxidativos podendo contribuir com a hipertensão (WANG et al., 2016; JUNG; LEE, 2022). Em vista disso, este estudo buscou a existência de uma correlação entre a infecção por CMV e o estresse oxidativo em pacientes hipertensos.

Método

Trata-se de um estudo transversal descritivo com análise quantitativa que foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa da UFMT campus Sinop, sob o parecer nº 5.711.138 CAAE 61418622.8.0000.8097. Participaram desse projeto pacientes atendidos em 11 Unidades Básicas de Saúde (UBS) que corresponde a 47,8% das unidades do município de Sinop-MT no período de setembro de 2022 a abril de 2023. Foram incluídos nesse estudo pacientes normotensos e hipertensos ≥ 18 anos de idade, enquanto os critérios de exclusão foram pacientes <18 anos e infectados com outros vírus como HIV, Hepatite B ou C, Sars-Cov-2 e gestantes.

O fluxograma do estudo se divide em três etapas, como se vê na figura 1: a primeira consiste na abordagem desses pacientes nas unidades de saúde; em seguida, a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), coleta dos dados demográficos, sinais vitais (mensuração da pressão arterial e frequência cardíaca) e coleta de sangue venoso.

Por último, o envio dessas amostras para a Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) para análise da concentração de anticorpos IgG CMV, ácido úrico, marcadores indiretos oxidantes (Proteínas carboniladas, e substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico) e antioxidantes (Vitamina C, glutatona-s-transferase, catalase e superóxido dismutase) no soro.

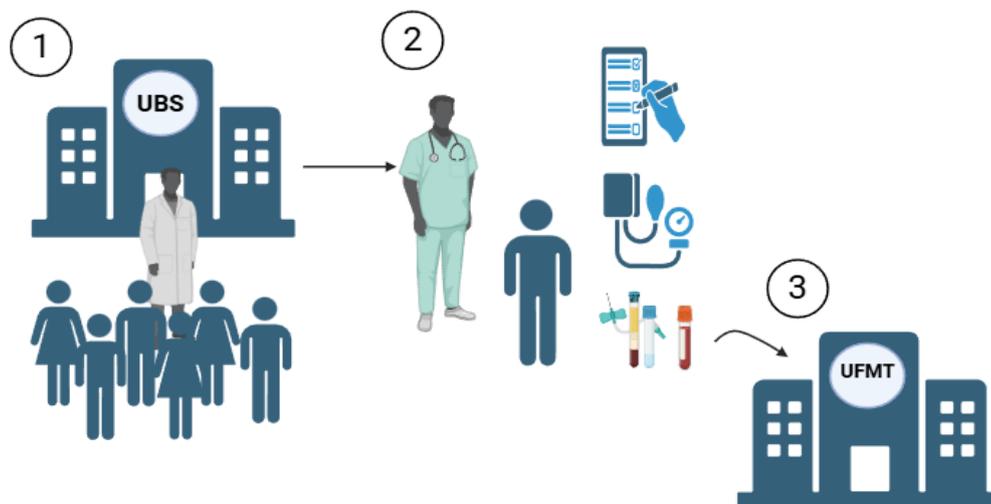


Figura 1. Fluxograma. Etapa 1: Abordagem dos voluntários na UBS; Etapa 2: Coleta de dados demográficos, verificação da PA e FC e coleta de material biológico (sangue venoso); Etapa 3: Preparação e acondicionamento do soro na UFMT para posterior análise.

Os dados obtidos estão apresentados em média e desvio padrão. As análises estatísticas entre os grupos foram realizadas por meio do Software GraphPad Prism, versão 8 (GraphPad Prism 8 para Windows, San Diego, CA, USA), considerando-se como nível de significância para o estudo o valor de 5%. Os dados foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para avaliação da distribuição Gaussiana. A comparação entre os grupos (hipertensos e normotensos) foi realizada pelo teste t de Student.

Resultados

Caracterização da população estudada

Participaram desse projeto 118 voluntários, os quais 53,4% eram hipertensos e 46,6% normotensos, com predominância feminina em ambos os grupos (76,3%). Entre os hipertensos, 74,6% eram mulheres, apenas 6,3% possuíam ensino superior completo, 12,7% eram analfabetos, e 77,8% apresentavam renda familiar de até dois salários-mínimos. Ademais o consumo de álcool era de 22,2% e 38,1% praticavam exercícios físicos, 88,8% incluíam vegetais regularmente na dieta, 42,8% tinham Diabetes Mellitus e 26,9%

dislipidemia. Já entre os normotensos, 78,2% eram mulheres, 50,9% possuíam ensino superior e apenas 3,6% eram analfabetos, 29,1% tinham renda acima de cinco salários-mínimos. Nesse grupo, o consumo de álcool foi de quase um terço, a prática de exercícios físicos de 47,3%, o consumo regular de vegetais de 89,1%, e as taxas de diabetes mellitus e dislipidemia foram de 10,9% e 5,4%, respectivamente.

Acerca dos parâmetros pressóricos, o grupo hipertenso apresentou uma média de 141,9x79,6 mmHg de pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD), respectivamente, no membro direito e de 139,3x79,3 mmHg no membro esquerdo. Enquanto nos normotensos a média foi de 121,1x77,5 mmHg no membro direito e de 119,4 x77,3 mmHg no esquerdo. Os dados demonstraram que a PAS apresentou diferença significativa entre os grupos, como já esperado. Enquanto a PAD apresentou semelhança em ambos os grupos participantes. Com respeito a frequência cardíaca, não houve significância entre os grupos.

Em relação a faixa etária, no grupo de hipertensos, nota-se que 95,2% possuem idade acima de 41 anos. Outro ponto importante é que na categoria feminina, 77,7% estão acima dos 41 anos

de idade, sendo relevante ressaltar que o grupo de voluntários é composto por principalmente mulheres.

Marcadores do estresse oxidativo

Na figura 2 são apresentados dados dos marcadores antioxidantes dosados no soro dos voluntários. Em relação as defesas antioxidantes, observou-se que não houve diferença

significativa nas atividades das enzimas SOD, GST e na vitamina C, enquanto a atividade da CAT estava significativamente diminuída nos hipertensos quando comparada aos normotensos.

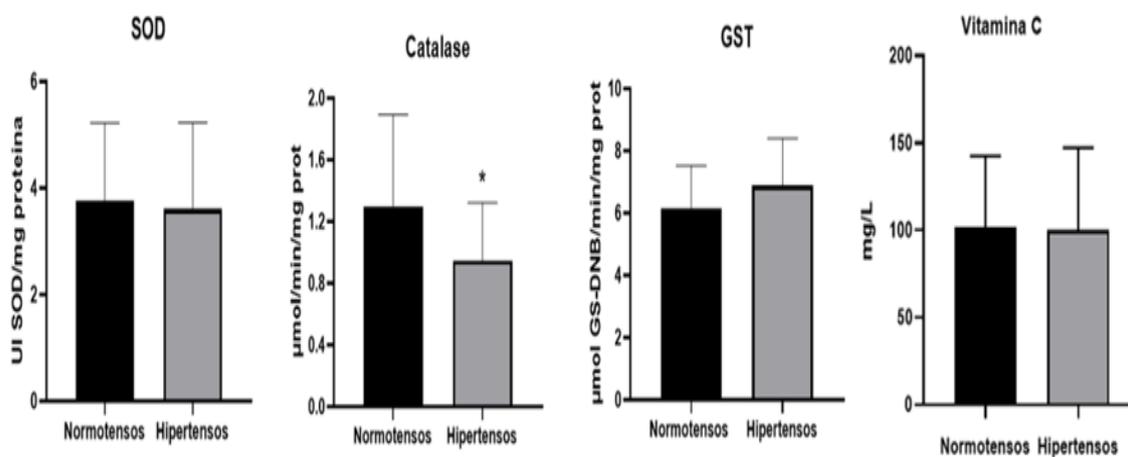


Figura 2. Marcadores antioxidantes indiretos no soro de hipertensos e normotensos: SOD, Superóxido dismutase; CAT, catalase; GST, glutatona reduzida e vitamina C. Os dados estão apresentados com média \pm desvio padrão, os quais foram submetidos ao teste T de Student. *Indica diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos estudados.

Na figura 3, são apresentados dados dos marcadores oxidantes indiretos dosados no soro dos voluntários. Em relação ao TBARs não houve diferença entre hipertensos e normotensos. Mas

observou-se um aumento significativo de proteínas carboniladas (PCOs) no grupo dos hipertensos quando comparados ao grupo dos normotensos.

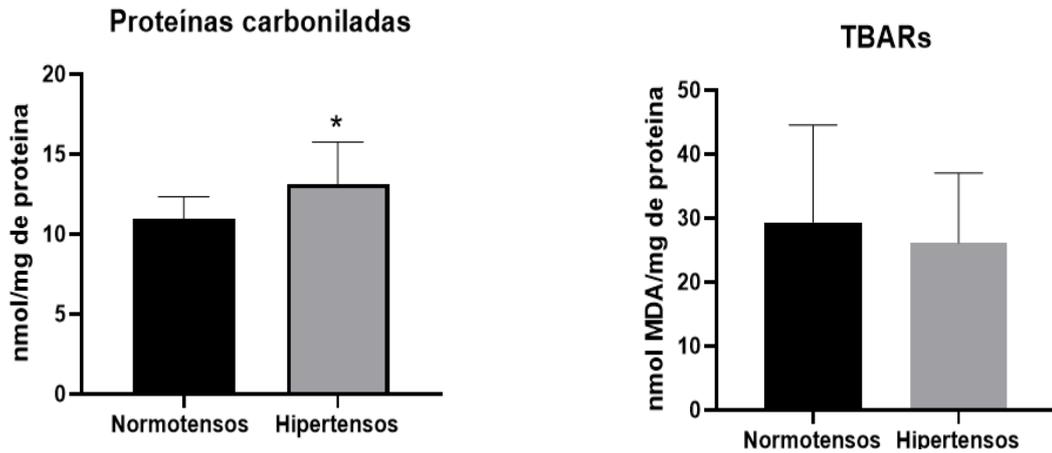


Figura 3. Marcadores oxidantes indiretos no soro de hipertensos e normotensos: Proteínas carboniladas e TBARs, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. *Indica diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos estudados.

Dosagem de imunoglobulina IgG anti-CMV

Na figura 4 são apresentados os dados da dosagem de IgG para CMV no soro. Nesse caso, todos os pacientes apresentaram ≥ 1.0 RU/mL, porém

observou-se que houve uma diminuição da concentração do analito no grupo hipertensos comparados ao normotensos.

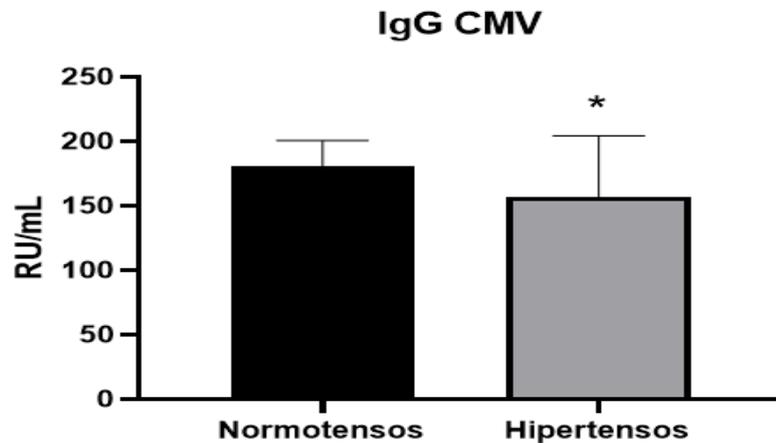


Figura 4. Dosagem de imunoglobulina IgG no soro de normotensos e hipertensos, os resultados foram apresentados em RU/mL. *Indica diferença estatística entre os grupos analisados ($P < 0,05$).

Dosagem de ácido úrico

Na figura 5, são apresentados os resultados das dosagens de ácido úrico, sendo expresso em mg/dl, demonstrando

diferença entre os grupos avaliados. Diante disso, houve maior concentração do analito nos hipertensos comparativamente aos normotensos.

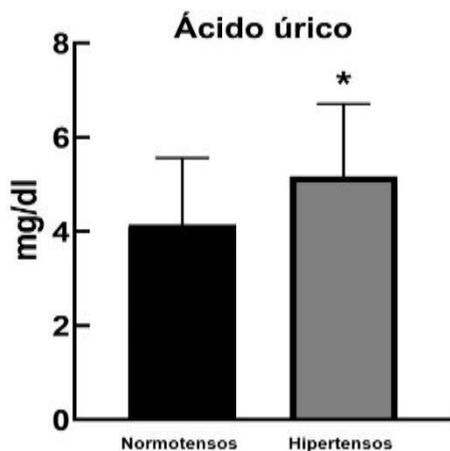


Figura 5. Dosagem de ácido úrico no soro de hipertensos e normotensos, os resultados foram apresentados em mg/dl. *Indica diferença estatística ($P < 0,05$).

Análise de correlação

Foi realizado uma análise de correlação, com todos os participantes, onde os normotensos e hipertensos foram divididos de acordo com a presença ou não de diabetes. Somente o antioxidante CAT demonstrou diferença significativa entre hipertensos com e sem diabetes, como evidenciado na figura 6, pois houve uma redução deste antioxidante em pacientes hipertensos com diabetes, comparados aos hipertensos sem diabetes.

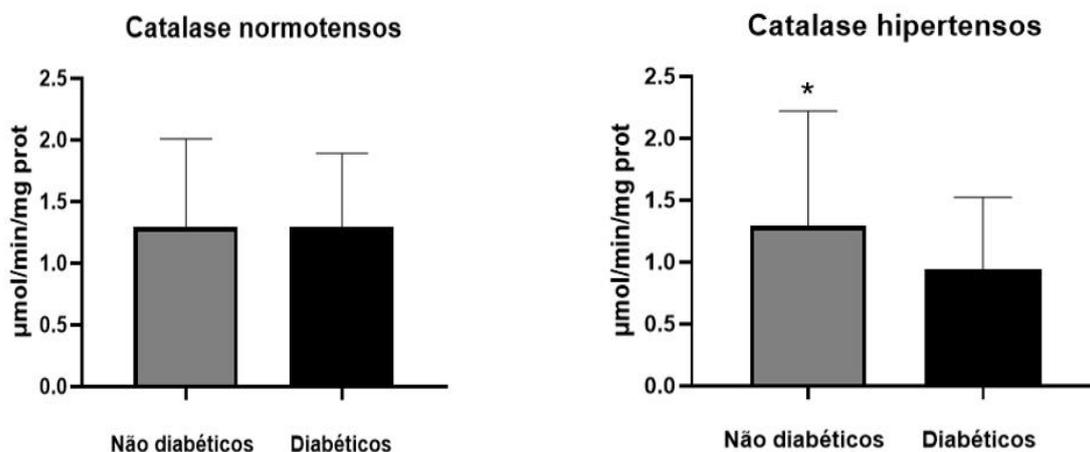


Figura 6. Resultados da análise de correlação entre normotensos diabéticos e não diabéticos; hipertensos diabéticos e não diabéticos. *Indica diferença estatística entre os grupos analisados ($P < 0,05$).

Discussão

Nosso estudo caracterizou os participantes, observando uma predominância do sexo feminino entre os hipertensos (74,6%), sugerindo maior

acometimento da hipertensão em mulheres. Além disso, 54,4% das mulheres tinham mais de 51 anos, faixa etária que coincide com a menopausa e pós-menopausa, esse período estão associados ao aumento da pressão

arterial devido à redução de estrogênio, que afeta negativamente a síntese de NO e a regulação pressórica (ZILBERMAN et al., 2015; VISNIAUSKAS et al., 2023).

A idade média dos hipertensos foi de 61,1 anos, reforçando a associação entre envelhecimento e hipertensão, provavelmente devido à rigidez vascular e ao aumento do estresse oxidativo (BARROSO et al., 2021). Além disso, fatores socioeconômicos, como renda e escolaridade, mostraram forte influência na hipertensão: indivíduos com maior grau de instrução e renda apresentaram menor prevalência (6,34%), corroborando estudos que associam maior escolaridade à redução da pressão arterial (MENDES; MORAIS; GOMES, 2014).

Nossas análises demonstraram uma alta soroprevalência em ambos os grupos, visto que em todos os indivíduos apresentaram sorologia reagente para IgG anti-CMV. Essa alta prevalência encontrada em nosso trabalho coincide com a epidemiologia mundial, pois em algumas regiões pode-se chegar a 100% (HE et al., 2023).

Em relação a atividade das enzimas antioxidantes, não houve diferenças significativas na atividade da SOD, GST ou nos níveis de vitamina C entre os grupos analisados. Entretanto, a

atividade da CAT foi reduzida no grupo hipertenso e associada à presença de diabetes, reforçando o papel do estresse oxidativo na patogênese dessa condição (ASMAT; ABAD; ISMAIL, 2016). Quanto aos marcadores oxidantes, observou-se um aumento significativo nos níveis de carbonilação de proteínas (PCOs) no grupo hipertenso, indicando maior estresse oxidativo (COLOMBO et al., 2015; DONNE et al., 2003), esses dados refletem o impacto da oxidação proteica na hipertensão.

Quanto a dosagem do ácido úrico, nossos achados mostraram um aumento sérico no grupo dos hipertensos. O ácido úrico pode contribuir em atividades antioxidantes, mas quando presente no citoplasma celular em ambientes ácido/hidrofóbico se torna um agente oxidante, contribuindo para o estresse oxidativo, o que corrobora com nossos resultados no grupo hipertenso (LOPERENA; HARRISON, 2017; NDREPEPA, 2018).

Portanto, nossos resultados demonstraram um desequilíbrio do *status redox* no grupo hipertenso, visto que houve um decaimento das defesas antioxidantes, a CAT, e um aumento de agentes oxidantes, proteínas carboniladas. Isso vai ao encontro de estudos que afirmam que o estresse oxidativo está envolvido na

fisiopatologia da hipertensão (MONTEZANO et al., 2015; LUANGMONKONG et al., 2018) e consequentemente causando uma exacerbação em processos inflamatórios que levam a formação de aterosclerose, apoptose de miócitos e agregação plaquetária (MONTEZANO et al., 2015; PINHEIRO; OLIVEIRA-PAULA, 2020). E o diabetes parece ser um fator importante para o declínio das defesas antioxidantes na hipertensão.

Já está bem estabelecido na literatura que, embora níveis elevados de EROs possam causar danos celulares irreparáveis (estresse oxidativo), em níveis baixos, as EROs são importantes moléculas de sinalização celular. O estresse oxidativo também pode contribuir com a exacerbação de infecções virais. Um trabalho publicado por Perera et al, 2022, demonstrou que o CMV utilizou uma via de sinalização de EROs para contribuir no estabelecimento e manutenção da latência viral. No entanto, em altas concentrações, as EROs tornaram-se um sinal potente para reativação desse vírus. Dessa forma, em condições em que ocorre aumento do estresse oxidativo, como a hipertensão arterial, pode haver reativação do CMV latente, contribuindo com danos celulares.

Estudos recentes mostram uma correlação entre a presença de CMV com doenças cardiovasculares, por exemplo uma meta-análise publicada por WANG *et al.* (2016), que trouxe a análise de 5 publicações envolvendo mais de 11 mil participantes, sendo concluído uma correlação existente entre CMV e hipertensão. Esse estudo de meta-análise avaliou participantes de países como China, Israel e EUA, sendo que não existe nenhum trabalho na América do Sul onde se avalia a infecção por CMV como fator de risco para a hipertensão arterial. Inicialmente vimos que não houve correlação significativa entre os valores de PAS e PAD dos grupos normotensos e hipertensos com a concentração do anticorpo IgG anti-CMV dosado no soro dos participantes. No entanto, ao avaliarmos a correlação entre os marcadores oxidativos e antioxidantes com a concentração sérica de IgG anti-CMV nos hipertensos, verificamos uma correlação negativa, estatisticamente diferente apenas com a SOD e a CAT. Essa correlação sugere que quanto maior a concentração de anticorpos anti-CMV, menor são as atividades dessas enzimas antioxidantes. Além disso, nossos dados também apresentaram uma correlação positiva no grupo normotensos, indicando que quanto maior a concentração de

anticorpos, maior será atividade oxidante. Portanto, é sugestivo que a presença de anticorpos CMV influenciam na redução da atuação de antioxidantes.

Um dos mecanismos que pode justificar essa relação foi discutido em um recente artigo publicado por nosso grupo, o qual hipotetiza a possível relação de receptores acoplados a proteína G viral, codificados pelo CMV nas células infectadas, com o desenvolvimento da hipertensão. Esses vGPCR possuem semelhança com receptores de quimiocinas e quando ativados, ativam o fator nuclear NFkB e pode contribuir com a geração de estresse oxidativo (BOMFIM *et al.*, 2023).

Nosso estudo reforça, com outros trabalhos já publicados, que o CMV, mesmo sendo um vírus latente, pode

promover injúrias ao longo do tempo, podendo estar relacionado com a geração de estresse oxidativo na hipertensão arterial.

Conclusão

A hipertensão arterial foi associada com o desequilíbrio do status redox, ou seja, aumento da atividade de oxidantes e diminuição de defesas antioxidantes. Não foi detectado correlação entre a concentração sérica de IgG anti-CMV e os valores de pressão arterial, no entanto vimos que o aumento de IgG anti-CMV está correlacionado com a diminuição das defesas antioxidantes em pacientes hipertensos. Dessa forma, sugerimos que o CMV pode contribuir com a geração de estresse oxidativo na hipertensão arterial.

REFERÊNCIAS

AIRES, Margarida de Melo. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

ASMAT, Ullah; ABAD, Khan; ISMAIL, Khan. Diabetes mellitus and oxidative stress — a concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 547-553, 2016.

BARROSO, W.; RODRIGUES, C.; BORTOLOTTI, L.; MOTA-GOMES, M. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BARROSO, W.; RODRIGUES, C.; BORTOLOTTI, L.; MOTA-GOMES, M. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BATES, Matthew; BRANTSAETER, Arne. Human cytomegalovirus (CMV) in Africa: a neglected but important pathogen. **Journal of Virus Eradication**, v. 2, n. 3, p. 136-142, 2016.

BOECKH, Michael; GEBALLE, Adam. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 5, p. 1673-1680, 2011.

BOMFIM, G. F.; CAU, S. B.; BRUNO, A. S.; FEDOCE, A. G. *et al.* Hypertension: a new treatment for an old disease? Targeting the immune system. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 12, p. 2028-2048, 2019.

BOMFIM, G.; PRIVIERO, F.; POOLE, E.; TOSTES, R. *et al.* Cytomegalovirus and cardiovascular disease: a hypothetical role for viral G protein-coupled receptors in hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 36, n. 9, p. 471-480, 2023.

CERQUEIRA, Nereide Freire; YOSHIDA, Winston Bonetti. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, p. 417-423, 2002.

COLOMBO, G.; CLERICI, M.; GARAVAGLIA, M.; GIUSTARINI, D. *et al.* A step-by-step protocol for assaying protein carbonylation in biological samples. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v. 1019, p. 178-190, 2016.

DALLE-DONNE, I.; GIUSTARINI, D.; COLOMBRO, R.; ROSSI, R. *et al.* Protein carbonylation in human diseases. **Trends Mol Med**, v. 9, n. 4, p. 169-176, 2003.

GARGOURI, J.; ELLEUCH, H. ; KARRAY, H. ; REKIK, H. *et al.* Prevalence of anti-CMV antibodies in blood donors in the Sfax region (value in blood transfusion). **La Tunisie Médicale**, v. 78, n. 8-9, p. 512-517, 2000.

GRAHAME-CLARKE, C.; CHAN, N.; ANDREW, D.; RIDGWAY, G. *et al.* Human cytomegalovirus seropositivity is associated with impaired vascular function. **Circulation**, v. 108, n. 6, p. 678-683, 2003.

GUERRA, A.; SIRAVENHA, L. ; LAURENTINO, R. ; FEITOSA, R. *et al.* Seroprevalence of HIV, HTLV, CMV, HBV and rubella virus infections in pregnant adolescents who received care in the city of Belém, Pará, Northern Brazil. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 18, n. 1, p. 169, 2018.

HALL, John. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HARGETT, Danna; SHENK, Thomas E. Experimental human cytomegalovirus latency in CD14+ monocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 46, p. 20039-20044, 2010.

HE, H.; TAN, Y.; TANG, Z. ; WANG, L. *et al.* ADAM9: A regulator between HCMV infection and function of smooth muscle cells. **Journal of Medical Virology**, v. 95, n. 1, p. e28352, 2023.

JOHNSON, Julie; ANDERSON, Brenna; PASS, Robert. Prevention of maternal and congenital cytomegalovirus infection. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 55, n. 2, p. 521, 2012.

JUNG, Seang-Hwan; LEE, Kyung-Tae. Atherosclerosis by Virus Infection — A Short Review. **Biomedicines**, v. 10, n. 10, p. 2634, 2022.

JUNQUEIRA, Jader Joel; SANCHO, Talita Marçal; SANTOS, Vera Aparecida dos. Citomegalovírus: revisão dos aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e de tratamento. **NewsLab**, v. 86, p. 88-104, 2008.

LOBATO-SILVA, D. F. Citomegalovírus: epidemiologia baseada em dados de soroprevalência. **Revista Pan-Amazônia de Saúde**, v.7, p. 213-219, 2016.

LOPERENA, Roxana; HARRISON, David. Oxidative stress and hypertensive diseases. **Medical Clinics**, v. 101, n. 1, p. 169-193, 2017.

LUANGMONKONG, T.; SURIGUGA, SU.; MUTSAERS, H.; GROOTHUIS, G. *et al.* Targeting oxidative stress for the treatment of liver fibrosis. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, v. 175, p. 71–102, 2018.

MENDES, Gisele; MORAES, Clayton; GOMES, Lucy. Prevalência de hipertensão arterial sistêmica em idosos no Brasil entre 2006 e 2010. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 9, n. 32, p. 273-278, 2014.

MONTERA, Vanessa dos Santos Pereira. Benefícios dos nutrientes antioxidantes e seus cofatores no controle do estresse oxidativo e inflamação na insuficiência cardíaca. **Revista da SOCERJ**, v. 20, n. 1, p. 20-27, 2007.

MONTEZANO, A.; DULAK-LIS, M.; TSIROPOULOU, S.; HARVEY, A. *et al.* Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 5, p. 631-641, 2015.

MURRAY, Matthew J.; PETERS, Nicholas E.; REEVES, Matthew B. Navigating the host cell response during entry into sites of latent cytomegalovirus infection. **Pathogens**, v. 7, n. 1, p. 30, 2018.

PESCH, Megan; SAUNDERS, Natalie; ABDELNABI, Samia. Cytomegalovirus infection in pregnancy: prevention, presentation, management and neonatal outcomes. **Journal of Midwifery & Women's Health**, v. 66, n. 3, p. 397-402, 2021.

PINHEIRO, Lucas C.; OLIVEIRA-PAULA, Gustavo H. Sources and effects of oxidative stress in hypertension. **Current Hypertension Reviews**, v. 16, n. 3, p. 166-180, 2020.

PINHEIRO, Lucas C.; OLIVEIRA-PAULA, Gustavo H. Sources and effects of oxidative stress in hypertension. **Current Hypertension Reviews**, v. 16, n. 3, p. 166-180, 2020.

RÖMKENS, T.; BULTE, G.; NISSEN, L.; DRENTH, J. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: A systematic review. **World journal of gastroenterology**, v. 22, n. 3, p. 1321, 2016.

SCHOLZ, M.; CINATL, J.; GROSS, V.; VOGEL, J. *et al.* Impact of oxidative stress on human cytomegalovirus replication and on cytokine-mediated stimulation of endothelial cells1. **Transplantation**, v. 61, n. 12, p. 1763-1770, 1996.

SIES, Helmut; BERNDT, Carsten; JONES, Dean P. Oxidative stress. **Annual Review of Biochemistry**, v. 86, p. 715-748, 2017.

SOARES, Sylvania França da Silva; DONATTI, Teresinha Lermen; SOUTO, Francisco José Dutra. Serological markers of viral, syphilitic and toxoplasmic infection in children and teenagers with nephrotic syndrome: case series from Mato Grosso State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 499-504, 2014.

VISNIAUSKAS, B.; KILANOWSKI-DOROH, I.; OGOLA, B.; MCNALLY, A. *et al.* Estrogen-mediated mechanisms in hypertension and other cardiovascular diseases. **Journal of human hypertension**, v. 37, n. 8, p. 609-618, 2023.

VOSSEN, R. C. ; PERSONS, M. C. ; DRUNEN, M. E. ; BRUGGEMAN, C. A. *et al.* Intracellular thiol redox status affects rat cytomegalovirus infection of vascular cells. **Virus Research**, v. 48, n. 2, p. 173-183, 1997.

WANG, Z.; PENG, X.; LI, M. ; JIN, F. *et al.* Is human cytomegalovirus infection associated with essential hypertension? A meta-analysis of 11,878 participants. **Journal of Medical Virology**, v. 88, n. 5, p. 852-858, 2016.

WHO. World Health Organization. **Hypertension**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/hypertension#tab=tab_1>. Acesso em: 17 jan. 2023.

YINON, Yoav; FARINE, Dan; YUDIN, Mark. Screening, diagnosis, and management of cytomegalovirus infection in pregnancy. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 65, n. 11, p. 736-743, 2010.

ZAGO, Anderson; ZANESCO, Angelina. Óxido nítrico, doenças cardiovasculares e exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, p. e264-e270, 2006.

ZHEN, J.; ZENG, M. ; ZHENG, X. ; QIU, H. *et al.* Human cytomegalovirus infection is associated with stroke in women: the US National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004. **Postgraduate Medical Journal**, v. 98, n. 1157, p. 172-176, 2022.

ZILBERMAN, J. ; CEREZO, G. ; SUELDO, M. ; FERNANDEZ-PÉREZ, C. *et al.* Association between hypertension, menopause, and cognition in women. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 17, n. 12, p. 970-976, 2015.

ANEXOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A Dengue como fator de risco para o aumento de eventos cardiovasculares maiores na hipertensão arterial: fisiopatologia vascular

Pesquisador: GISELE FACHOLI BOMFIM

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 61418622.8.0000.8097

Instituição Proponente: Instituto de Ciências da Saúde campus de Sinop

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
Universidade Federal de Mato Grosso/ UFMT

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.711.138

Apresentação do Projeto:

A apresentação do projeto, Hipótese, Critério de inclusão, Critério de exclusão e Número de participantes foram retirados do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_19788999.pdf, postado em: 07/10/2022).

De acordo com a pesquisadora, a hipótese desse projeto é que o vírus da Dengue piora a disfunção endotelial presente na hipertensão arterial e contribui para o maior desenvolvimento de eventos cardiovasculares maiores. Sendo assim o objetivo é realizar o acompanhamento clínico e laboratorial de marcadores de risco cardiovascular de pacientes hipertensos e normotensos infectados ou não com Dengue. O planejamento do projeto conta com quatro grupos de pacientes: 1) Normotensos não infectados; 2) Hipertensos não infectados; 3) Normotensos com Dengue; e 4) Hipertensos com Dengue. Os grupos de pacientes normotensos e hipertensos não infectados (grupos 1 e 2) serão pacientes atendidos na Unidade Básica de Saúde "Cidade Jardim". Essa UBS foi escolhida, primeiro porque todas as UBS do município possuem atendimento e acompanhamento de pacientes hipertensos, e essa UBS especificamente é uma Unidade Didática Avançada da UFMT, o que facilita o acesso. Os grupos com pacientes normotensos e hipertensos infectados com Dengue (grupos 3 e 4) serão pacientes atendidos na Unidade de Pronto Atendimento (UPA) de Sinop-MT com diagnóstico clínico ou laboratorial de infecção pelo vírus da Dengue. A UPA foi

Endereço: Alexandre Ferronato, 1200, Bloco Acre, sala 16
Bairro: Residencial Cidade Jardim **CEP:** 78.550-728
UF: MT **Município:** SINOP
Telefone: (66)3533-3199 **E-mail:** cephumanos.cus@ufmt.br



Continuação do Parecer: 5.711.138

escolhida por ser o local da cidade com maior fluxo de pacientes infectados com Dengue. A abordagem dos pacientes será realizada no período de outubro de 2022 a outubro de 2024. Primeiramente os pacientes irão responder um questionário com características sociodemográficas, estilo de vida para risco cardiovascular e situação clínica. Algumas informações serão obtidas no prontuário do paciente como dados do hemograma, proteína C reativa e sorologia para Dengue. Logo em seguida será aferido a pressão arterial do paciente nos dois braços e então será feita a coleta de sangue em um tubo de 10 mL. Após 30 e 60 dias do dia um da infecção com Dengue entraremos em contato com os pacientes dos grupos 3 e 4 para realização da medida da pressão arterial e para realizar nova coleta de sangue. O sangue coletado será centrifugado, separado o soro para uso no diagnóstico molecular do vírus, dosagem dos biomarcadores indiretos de estresse oxidativo e da eNOS e de microRNA. Dessa forma pretendemos verificar se a infecção pelo vírus da Dengue pode aumentar o risco de eventos cardiovasculares maiores pós infecção em pacientes hipertensos e então propor futuramente formas de intervenções para minimizar esses riscos e melhorar o prognóstico desses pacientes. Iremos ainda formar recursos humanos de alta qualificação, fortalecer o Programa de Pós-graduação em Ciências em Saúde e gerar artigos científicos publicados em revistas de alto impacto.

Hipótese:

O vírus da Dengue, o qual tem tropismo por células endoteliais, piora a disfunção endotelial presente na hipertensão arterial e contribui para o maior desenvolvimento de eventos cardiovasculares maiores.

Critério de inclusão:

Os critérios de inclusão para os pacientes considerados infectados com Dengue serão pacientes com diagnóstico clínico ou laboratorial de Dengue com menos de 7 dias de início da infecção. Já em relação aos pacientes hipertensos, eles precisam ter o diagnóstico médico de Hipertensão arterial ou apresentar pressão arterial maior ou igual a 140 por 90 mmHg ou ainda fazer uso de anti-hipertensivos. Os pacientes normotensos devem ter pressão arterial abaixo de 140 por 90 mmHg e não fazer uso de anti-hipertensivos. Todos os participantes do projeto deverão ser maiores de 18 anos.

Critério de Exclusão:

Endereço: Alexandre Ferronato, 1200, Bloco Acre, sala 16
Bairro: Residencial Cidade Jardim **CEP:** 78.550-728
UF: MT **Município:** SINOP
Telefone: (66)3533-3199 **E-mail:** cephumanos.cus@ufmt.br



Continuação do Parecer: 5.711.138

Serão excluídos do projeto os pacientes que tiverem infectados com outro vírus como HIV, hepatites virais ou Sars-Cov-2, pois essas infecções podem comprometer o sistema cardiovascular.

Número de participantes: 200.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos foram retirados do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_19788999.pdf, postado em: 07/10/2022).

De acordo com a pesquisadora:

Objetivo Primário:

Verificar e acompanhar a pressão arterial e marcadores sorológicos de risco cardiovascular em pacientes hipertensos e normotensos infectados ou não com o vírus da Dengue.

Objetivo Secundário:

Verificar a carga viral de Citomegalovírus e os marcadores de disfunção vascular em pacientes hipertensos e normotensos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A avaliação dos Riscos e Benefícios foram retirados do arquivo Informações Básicas do Projeto (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_19788999.pdf, postado em: 07/10/2022).

De acordo com a pesquisadora:

Riscos:

Nesse projeto serão realizadas coleta de sangue e medida da pressão arterial. os riscos associados com a coleta de sangue poderão ser dor, hematoma (mancha rocha na pele) ou desconforto no local da coleta, desmaios e, raramente, poderá haver pequeno coágulo ou infecção no local. Para evitar os riscos, o procedimento de coleta será realizado por profissional capacitado, será utilizado material descartável e seguirá as normas de segurança para coleta de sangue. O paciente será orientado a realizar compressas frias nas próximas 24h caso o local da coleta fique dolorido ou com hematoma. Já em relação ao procedimento de medida da pressão arterial, o paciente poderá

Endereço: Alexandre Ferronato, 1200, Bloco Acre, sala 16
 Bairro: Residencial Cidade Jardim CEP: 78.550-728
 UF: MT Município: SINOP
 Telefone: (66)3533-3199 E-mail: cephumanos.cus@ufmt.br



Continuação do Parecer: 5.711.138

sentir um desconforto e formigamento no braço. Essa sensação será resolvida naturalmente em poucos minutos, não necessitando de nenhuma intervenção.

Benefícios:

Não há benefício direto pela participação nessa pesquisa, no entanto pode ser que os resultados deste estudo tragam um benefício para uma parcela de pacientes no futuro. A participação da população neste projeto ajudará os médicos a conhecerem melhor os riscos cardiovasculares de um paciente após infecção por Dengue. Este conhecimento ajudará os órgãos competentes a tomarem medidas corretas de controle e prevenção destas comorbidades.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto com o objetivo de realizar o acompanhamento clínico e laboratorial de marcadores de risco cardiovascular de pacientes hipertensos e normotensos infectados com Dengue na Unidade de Pronto Atendimento (UPA) de Sinop-MT, com diagnóstico clínico ou laboratorial de Dengue, e ainda pacientes hipertensos e normotensos atendidos na UBS Cidade Jardim no período de outubro de 2022 a outubro de 2024.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1- Folha de rosto: Adequado
- 2- Informações básicas na Plataforma Brasil: Adequado
- 3- Projeto de pesquisa: Adequado.
- 4- TCLE: Adequado.
- 5- TALE: Não se aplica.
- 6- Orçamento: Adequado.
- 7- Cronograma: Adequado.
- 8- Instrumento de coleta de dados: Adequado.
- 9- Declaração do local da pesquisa: Adequado.
- 10- Protocolo CIES: Não se aplica.
- 11- Declaração de infraestrutura: Adequado.
- 12- Declaração de recursos próprios: Adequado.
- 13- Declaração de que não iniciou a coleta de dados: Adequado
- 14- Declaração do patrocinador: Adequado.
- 15- Currículo do pesquisador: Atualizado.

Endereço: Alexandre Ferronato, 1200, Bloco Acre, sala 16
 Bairro: Residencial Cidade Jardim CEP: 78.550-728
 UF: MT Município: SINOP
 Telefone: (66)3533-3199 E-mail: cephumanos.cus@ufmt.br



Continuação do Parecer: 5.711.138

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de análise de resposta ao Parecer pendente n.º 5.670.358 emitido em pelo CEP em 28/09/22.

O CEP/CUS de acordo com as atribuições definidas na resolução CNS 466 de 2012 e Normativa Operacional n.º 001 de 2013 manifesta-se pela **APROVAÇÃO** após atendidas as pendências do projeto de pesquisa.

Ressalta-se que deverá encaminhar relatório semestral e final (modelo no site: <https://www.ufmt.br/site/cepsinop>).

Considerações Finais a critério do CEP:

Ressaltam-se as seguintes atribuições do pesquisador:

1. Desenvolver o projeto conforme delineado;
2. Elaborar relatórios semestrais e final (na forma de notificação na PB), sendo o relatório final submetido até 90 dias após a conclusão da pesquisa;
3. Apresentar dados solicitados ao CEP ou CONEP a qualquer momento, se solicitado;
4. Manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua responsabilidade, pelo período de cinco anos após o término da pesquisa;
5. Encaminhar os resultados da pesquisa para publicação com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico do projeto;
6. Justificar, quando for o caso, a interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1976899.pdf	07/10/2022 12:54:54		Aceito
Outros	Carta_resposta_Parecer_5670358.pdf	07/10/2022 12:53:51	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Concordancia_NUPADSassinado.pdf	07/10/2022 12:50:01	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_CEP_new.pdf	06/10/2022	GISELE FACHOLI	Aceito

Endereço: Alexandre Ferronato, 1200, Bloco Acre, sala 16
 Bairro: Residencial Cidade Jardim CEP: 78.550-728
 UF: MT Município: SINOP E-mail: cephumanos.cus@ufmt.br
 Telefone: (66)3533-3199



Continuação do Parecer: 5.711.138

Brochura Pesquisa	Projeto_CEP_new.pdf	17:11:41	BOMFIM	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_new.pdf	08/10/2022 17:07:28	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Declaração do Patrocinador	PROPeq_TERMO_DE_AUXILIO_FINAN CEIRO.pdf	08/10/2022 17:08:10	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Outros	Declaracao_de_recursos_proprios.pdf	09/08/2022 18:24:04	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Outros	Declaracao_que_nao_iniciou_a_coleta_ de_dados.pdf	09/08/2022 18:23:03	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_CONEP_assinada.pdf	22/07/2022 17:23:23	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Outros	Questionario_Projeto_Dengue_Hiperten sao.pdf	22/07/2022 17:18:13	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEP.pdf	22/07/2022 17:16:55	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CIES_parecer.pdf	22/07/2022 17:11:55	GISELE FACHOLI BOMFIM	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SINOP, 19 de Outubro de 2022

Assinado por:
LARISSA BORGES DE LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Alexandre Ferronato, 1200, Bloco Acre, sala 16
 Bairro: Residencial Cidade Jardim CEP: 78.550-728
 UF: MT Município: SINOP
 Telefone: (66)3533-3199 E-mail: cephumanos.cus@ufmt.br

ANEXO 2

Identificação
interna
projeto

Questionário Projeto CMV– Hipertensão

Entrevistador: _____ Data: ____/____/____

- 1) Nome do paciente: _____
 - 2) Telefone de contato: _____
 - 3) Data de nascimento: ____/____/____ Gênero: M () ; F () ; Outros ()
 - 4) Escolaridade: Analfabeto () ; Ensino fundamental incompleto () ; EF completo () ; Ensino médio incompleto () ; EM completo () ; Ensino superior incompleto () ; ES completo () ;
 - 5) Renda familiar: Menos que 1 salário mínimo () ; 1 a 2 Salários mínimo () ; 2-5 salário mínimos () ; mais do que 5 salários mínimos () ;
 - 6) Diagnóstico clínico: S() N() ; Qual?: Dengue () ; Chikungunya () ; Zika ()
 - 7) Início dos sintomas: ____/____/____
 - 8) Data da coleta 1: ____/____/____
 - 9) Sintomas: Febre () ; Mialgia () ; Dor de cabeça () ; Artralgia () ; Dor retroorbial () ; Vômito () ; Enjôo () ; Rash cutâneo () ; Exantema () ; Diarréia () ; Coceiras () ;
 - 10) Hipertensão arterial S() N() ;
 - 11) Diabetes: S() N() ;
 - 12) Hipercolesterolemia: S() N() ;
 - 13) Doença auto-imune: S() N() ; Qual? _____
 - 14) Fumante: S() N() ;
 - 15) Uso de álcool: S() N() ;
 - 16) Atividade física** S() N() ;
 - 17) Ingestão de vegetais*: S() N() ;
 - 18) Histórico de Dengue: S() N() Quantas vezes: 1() 2() 3() ;
 - 19) Histórico de Chikungunya ou Zika ou Mayaro: S() N() ;
 - 20) Histórico de COVID-19: S() N() ;
 - 21) Uso de medicação: S() N() ; Quais? _____
-
- 22) Braço direito: PA sistólica: _____ PA diastólica: _____
 - 23) Braço esquerdo: PA sistólica: _____ PA diastólica: _____
 - 24) Frequência cardíaca (bpm): _____
 - 25) Encaminhamento para hospitalização: S() N() ;
 - 26) Dados exames laboratoriais: Leucócitos (/mm³) - _____
 - 27) Plaquetas (/mm³)- _____ Proteína-C reativa (mg/dL) _____
 - 28) Sorologia Dengue: IgM () ; IgG () ; NS1 ()
 - 29) RT-PCR: _____
 - 30) Observações: _____

*Ingestão de vegetais: consumo de vegetais ≥ 3 vezes na semana

**Atividade física: qualquer tipo de atividade física 2x na semana.



Universidade Federal de Mato Grosso
Campus Universitário de Sinop
Instituto de Ciências da Saúde - ICS

Termo de Consentimento livre e esclarecido

Título do estudo: A Dengue como fator de risco para o aumento de eventos cardiovasculares maiores na hipertensão arterial: fisiopatologia vascular. Pesquisador (a) responsável: Profa Dra Gisele Facholi Bomfim, Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Campus Sinop, MT. Endereço: Avenida Alexandre Ferronato, 1200, Reserva 35, Setor Industrial, Bloco 16 sala 6. Telefone para contato: 66-99989-4464.

Prezado (a) Senhor (a): Você está sendo convidado para participar de forma voluntária da pesquisa intitulada "A Dengue como fator de risco para o aumento de eventos cardiovasculares maiores na hipertensão arterial: fisiopatologia vascular" que será realizada pela pesquisadora Gisele Facholi Bomfim. Antes de concordar em participar é muito importante que você compreenda as informações contidas neste documento. O pesquisador irá responder todas as suas dúvidas antes de tomar sua decisão. Você tem o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade. Você não receberá para participar, assim como não terá gasto algum decorrente dessa pesquisa.

OBJETIVOS DO ESTUDO: Essa pesquisa tem como objetivo verificar e acompanhar a pressão arterial e marcadores sorológicos de risco cardiovascular em pacientes hipertensos e normotensos infectados ou não com o vírus da Dengue. **PROCEDIMENTOS:** Para isso você irá responder a um questionário sobre dados sociodemográficos, estilo de vida e doenças que tem ou já teve. Depois de 5 minutos sentado em repouso será feita a medida da pressão arterial nos dois braços, um de cada vez, e por último será coletado um tubo de 10 mL de sangue. Todo o procedimento deve levar cerca de 10 a 15 minutos. Após dois meses dessa primeira abordagem, entraremos em contato, pelo telefone fornecido, e agendaremos um segundo encontro para realizar nova medida de pressão arterial nos dois braços e outra coleta de 10 mL de sangue. O sangue coletado será armazenado no laboratório de Virologia da UFMT e após o fim do projeto todo o material será devidamente descartado. Todo o procedimento irá levar cerca de 10 a 15 minutos. **RISCOS:** os riscos na sua participação são que no momento da coleta de sangue você poderá sentir uma pequena dor, poderá ficar com uma mancha roxa na pele e poderá ficar com um pouco de dor no local da picada. Se ficar com muito medo, você poderá desmaiar. Raramente pode acontecer de você ficar com uma infecção no local da picada. Outro risco que pode ocorrer é que no momento de medir a sua pressão você poderá sentir um leve desconforto ou formigamento no braço que dura alguns segundos. Para evitar os riscos em relação a coleta, o profissional que irá realizar o procedimento tem experiência em coleta, então pode ficar mais tranquilo em relação ao manejo da técnica. Ele irá usar material estéril e descartável, e se ficar dolorido e/ou roxo no local você poderá fazer compressa fria no local nas próximas 24 horas. Em relação ao possível desconforto e formigamento após a medida de pressão, você pode aguardar poucos minutos que logo a sensação irá passar naturalmente. **BENEFÍCIOS:** Não há benefício direto para o(a) senhor(a). Pode ser que os resultados deste estudo tragam um benefício para uma parcela de pacientes no futuro. Você tem a garantia de ressarcimento e cobertura de despesas, assim como garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da sua participação na pesquisa. **SIGILO:** Seu nome será preservado, os dados obtidos serão publicados em revista científica, mas não serão divulgadas informações que permitam sua identificação, garantindo sua privacidade. Em casos de dúvidas sobre a pesquisa você deverá entrar em contato com a pesquisadora responsável através dos contatos no início deste documento. E se tiver dúvidas sobre os aspectos éticos, deverá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMT Campus Universitário de Sinop. Endereço: Avenida Alexandre Ferronato, 1200, sala 16, bloco Acre. CEP 78550-728, Bairro Cidade Jardim, Sinop-MT, telefone: 66 3533-3199, e-mail: cephumanos.cus@ufmt.br. Este documento está em duas vias, uma é sua e outra da pesquisadora.

Li e concordo em participar da pesquisa,

Data: ____/____/____

Nome Participante

Pesquisador responsável

Assinatura Participante

Assinatura responsável