



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Aline Brazão Gabrielli

**Influência da ancestralidade genética na distribuição de alelos e haplótipos
HLA -DR e -DQ em uma amostra de pacientes com
Diabetes Mellitus Tipo 1**

Rio de Janeiro

2015

Aline Brazão Gabrielli

**Influência da ancestralidade genética na distribuição de alelos e haplótipos HLA -DR e -
DQ em uma amostra de pacientes com diabetes mellitus tipo 1**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Dayse Aparecida da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Porto

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

G118 Gabrielli, Aline Brazão.
Influência da ancestralidade genética na distribuição de alelos e
haplótipos HLA -DR e -DQ em uma amostra de pacientes com Diabetes
Mellitus Tipo 1/ Aline Brazão Gabrielli. – 2015
122f.

Orientadora: Dayse Aparecida da Silva
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em
Biologia Humana e Experimental.

1. Diabetes Mellitus tipo 1. 2. Hereditariedade humana - Teses. 3.
Antígenos de histocompatibilidade HLA. – Teses. 4. Antígenos HLA-
DR. 5. Antígenos HLA-DP. I. Silva, Dayse Aparecida da. II.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto
Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 616.379-008.64

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
dissertação desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Aline Brazão Gabrielli

**Influência da ancestralidade genética na distribuição de alelos e haplótipos HLA -DR e -
DQ em uma amostra de pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 1**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 26 de agosto de 2015.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Dayse Aparecida da Silva (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Marília Brito Gomes
Hospital Universitário Pedro Ernesto – UERJ

Prof.^a Dra. Melanie Rodacki
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo Victor Zsigmond por todo apoio, compreensão e carinho.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof. Dra. Dayse Aparecida da Silva, por ter me acolhido em seu laboratório e não medir esforços para me auxiliar no decorrer deste trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Porto que me impele a alcançar novos desafios na carreira acadêmica e profissional sempre atencioso e acessível.

A minha família pela compreensão ao ter que conviver com minha ausência.

A Yasmim Rollenberg, minha grande companheira ao longo desse mestrado, que me ajudou sempre que pode e compartilhou comigo todas as dificuldades e alegrias ao longo desta caminhada.

Aos supervisores do laboratório HLA-UERJ, Gustavo Milson e Juliana Motta, por terem me auxiliado no início das análises de HLA.

A toda equipe técnica do laboratório HLA-UERJ que não são apenas companheiros de trabalho, mas também amigos que almejo ter por perto ao longo da vida.

RESUMO

GABRIELLI, Aline Brazão. **Influência da ancestralidade genética na distribuição de alelos e haplótipos HLA -DR e -DQ em uma amostra de pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 1.** 2015. 122 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

É irrefutável a influência do antígeno leucocitário humano classe II DR-DQ na deflagração do diabetes mellitus tipo 1. Entretanto, a frequência dos alelos e haplótipos ligados à doença e o seu respectivo efeito pode ser distinto entre os diferentes grupos étnicos e regiões geográficas. Estudos em populações miscigenadas ou não caucasianas são escassos e esbarram com a estratificação populacional inadequada, gerando associações espúrias. Diante disto, este estudo buscou investigar a partir da ancestralidade genômica a distribuição dos haplótipos HLA-DRB1, -DQA1 e -DQB1 dentro dos grupos étnicos observados na população brasileira. A ancestralidade genômica de 972 pacientes DM1 de diferentes regiões do país foi estimada utilizando 46 marcadores informativos de ancestralidade (AIMs), destes, 479 tiveram os loci HLA de classe II tipificados. Com a inferência da ancestralidade foi possível observar que a população analisada não seria estratificada corretamente utilizando apenas a autodeclaração étnica. Em todo o país houve predominância de ancestralidade europeia com algumas diferenças regionais. Não foi possível visualizar diferenças nas frequências dos haplótipos HLA entre os grupos étnicos, mas verificamos diferenças relevantes quanto à diversidade de alelos entre os grupos, a presença de indivíduos heterozigotos DR3/DR4 e influência da origem étnica do haplótipo e efeito relacionado ao mesmo na idade ao diagnóstico. Na população DM1 brasileira a presença de haplótipos de proteção foi maior do que o esperado (28%), destes, 41% foi encontrado no grupo caucasiano. A presença de haplótipos de proteção pode justificar a média de idade ao diagnóstico mais elevada observada na nossa população quando comparada aos achados da população americana. Estes dados ajudam a compreender a variação genética presente na população brasileira e também as diferenças observadas na apresentação clínica do DM1 em diferentes grupos étnicos.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 1. Ancestralidade genética. HLA. Antígeno Leucocitário Humano. População miscigenada. AIM-Indels.

ABSTRACT

GABRIELLI, Aline Brazão. **Influence of genetic ancestry in the distribution of alleles and haplotypes HLA-DR and -DQ in a sample of patients with type 1 diabetes.** 2015. 122 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

It is undeniable the influence of human leukocyte antigen class II DR-DQ in the outbreak of type 1 diabetes mellitus. However, the frequency of alleles and haplotypes associated with the disease and their respective effect is diversified among different ethnic groups and geographic regions. Studies in admixed or not Caucasian populations are scarce and face inadequate population stratification, generating spurious associations. In view of this, this study aimed to investigate the genetic ancestry from the distribution of HLA-DRB1, -DQA1 -DQB1 and within ethnic groups observed in the Brazilian population. The genetic ancestry of 972 DM1 patients from different regions of the country was estimated using 46 informative markers of ancestry (AIMs), of whom 479 had the HLA class II loci typed. With the inference of ancestry was observed that the study sample was not properly stratified using the ethnic self-declaration only. Across the country there was a predominance of European ancestry with some regional differences. It was not possible to see differences in the frequencies of HLA haplotypes between ethnic groups, but we found significant differences in the diversity of alleles between groups, the presence of heterozygotes DR3 / DR4 and influence of ethnic origin of haplotype and related effects even at the age diagnosis. In the DM1 Brazilian population the presence of protective haplotypes was higher than expected (28%), of these, 41% was found in the Caucasian group. The presence of protective haplotypes can justify the average age at diagnosis higher observed in our population when compared to the findings of the American population. These data help us understand the genetic variation present in the Brazilian population and also the differences in the clinical presentation of type 1 diabetes in different ethnic groups.

Keywords: Diabetes type 1. Genetic ancestry. HLA. Human Leukocyte Antigen. Mixed population. Ancestry. AIM-Indels.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 1 – | Principais genes estatisticamente associados ao DM1 e seus riscos relativos de 1970-2009 e suas respectivas forças de associação (Odds Ratio)..... | 21 |
| Figura 2 – | Representação esquemática das regiões do MHC e seus principais genes..... | 22 |
| Figura 3 – | Representação esquemática estrutural das moléculas HLA classe I e II na membrana celular..... | 23 |
| Figura 4 – | Representação esquemática do mosaico cromossômico observado em populações miscigenadas..... | 32 |
| Figura 5 – | Eletroferograma da análise dos fragmentos representando os possíveis alelos em diferentes marcadores com exemplos de homozigose e heterozigose..... | 41 |
| Figura 6 – | <i>Triangle plot</i> da representação visual da proporção de ancestralidade genética individual..... | 47 |
| Quadro 1 – | Centros participantes do estudo..... | 35 |
| Gráfico 1 – | Box plot com a distribuição dos percentuais de ancestralidade genômica quanto à autodeclaração..... | 44 |
| Gráfico 2 – | Gráfico MDS da distância genética entre as populações analisadas..... | 48 |
| Gráfico 3 – | Percentual de diversidade alélica dos loci HLA nos grupos étnicos..... | 56 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Tabela 1 – | Incidência do DM1 a cada 100 mil habitantes ao ano e aumento anual com intervalo de confiança de 95% em países não Europeus..... | 13 |
| Tabela 2 – | Incidência do DM1 a cada 100 mil habitantes ao ano e aumento anual com intervalo de confiança de 95% em diferentes regiões da Europa..... | 15 |
| Tabela 3 – | Taxas de incidência (por 100 mil habitantes; 95% IC) no período de 2002 - 2005 por idade e etnia..... | 16 |
| Tabela 4 – | AIM-Indels utilizados neste estudo, incluindo a localização dos marcadores no genoma e alelos relatados..... | 40 |
| Tabela 5 – | Distribuição dos 972 participantes por estado de origem analisados por ancestralidade genômica e tipificação do HLA..... | 43 |
| Tabela 6 – | Caracterização epidemiológica da população estudada..... | 43 |
| Tabela 7 – | Comparação entre as médias de ancestralidade genômica nos grupos étnicos autodeclarados..... | 45 |
| Tabela 8 – | Estimativa de ancestralidade genômica global por Estado participante..... | 46 |
| Tabela 9 – | Diversidade genética dos genes HLA tipificados..... | 50 |
| Tabela 10 – | Haplótipos mais frequentes, com origem étnica e efeito relatado no DM1..... | 51 |
| Tabela 11 – | Classificação étnica dos haplótipos estratificado pelo efeito..... | 51 |
| Tabela 12 – | Análise da etnia ligada aos haplótipos herdados pelos 479 indivíduos..... | 52 |
| Tabela 13 – | Influência do efeito atribuído ao genótipo na idade ao diagnóstico..... | 52 |
| Tabela 14 – | Influência do efeito atribuído aos haplótipos individuais na idade ao diagnóstico..... | 53 |
| Tabela 15 – | Frequência dos haplótipos de ancestralidade genética..... | 54 |
| Tabela 16 – | Distribuição dos haplótipos de acordo com etnia definida por AIM, estratificado pelo efeito..... | 55 |
| Tabela 17 – | Distribuição dos dois haplótipos quanto ao efeito nos grupos étnicos definidos por AIM..... | 55 |
| Tabela 18 – | Ocorrência do genótipo heterozigoto DR3/DR4 nos diferentes grupos étnicos..... | 56 |
| Tabela 19 – | Índices de diversidade molecular de acordo com ancestralidade genética..... | 57 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------|--|
| AIM | Marcadores informativos de ancestralidade |
| ANOVA | Análise de variância |
| APC | Células Apresentadoras de Antígeno |
| CEP/HUPE | Comitê de ética em Pasquisa / Hospital Universitário Pedro Ernesto |
| Cm | Altura |
| DM1 | Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1) |
| EDTA | Ácido etilenodiaminotetracético |
| EHW | Equilíbrio de Hardy-Weinberg |
| EWAS | Estudos de associação à escala epigenoma |
| FC | Frequência cardíaca |
| HLA | Antígeno leucocitário humano |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IDD | Idade ao diagnóstico |
| IDDM1 | <i>insulin dependent diabetes mellitus group 1</i> |
| IDDM2 | <i>insulin dependent diabetes mellitus group 2</i> |
| IL-12 | Interleucina-12 |
| IL1- β | Interleucina 1- β |
| IL-2 | Interleucina-2 |
| IMC | Índice de massa corporal |
| INF- γ | Interferon Gama |
| Kg | Peso |
| MHC | Complexo Principal de Histocompatibilidade |
| NOD | <i>“non-obese diabetic“</i> |
| PA | Pressão arterial sistêmica |
| PAD | Pressão arterial diastólica |
| PAS | Pressão arterial sistólica |
| PCR | Reação em cadeia de polimerase |
| PCR us | Proteína C reativa ultrasensível |
| PLD | <i>Pairwise Linkage Disequilibrium</i> |
| PND | Polineuropatia diabética |

| | |
|---------------|--|
| SAPE | Estreptavidina conjugada à R-ficoeritrina |
| T1DGC | Diabetes Tipo I Genetics Consortium |
| TCLE | Termo de consentimento livre e esclarecido |
| TNF- α | Fator de Necrose Tumoral Alfa |
| UERJ | Universidade do Estado do Rio de Janeiro |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|-----|
| | INTRODUÇÃO | 12 |
| 1 | OBJETIVOS | 34 |
| 1.1 | Objetivo geral | 34 |
| 1.2 | Objetivos específicos | 34 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS | 35 |
| 2.1 | Características do estudo | 35 |
| 2.2 | População estudada | 36 |
| 2.3 | Critério de inclusão e exclusão | 36 |
| 2.3.1 | <u>Procedimento de investigação</u> | 36 |
| 2.4 | Análises genéticas | 38 |
| 2.4.1 | <u>Extração do DNA e preparo da amostra</u> | 38 |
| 2.5 | Tipificação molecular HLA classe II | 38 |
| 2.6 | Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIM) | 39 |
| 2.7 | Análises estatísticas | 41 |
| 3 | RESULTADOS | 43 |
| 3.1 | Perfil epidemiológico | 43 |
| 3.2 | Caracterização do perfil ancestral da amostra e autodeclaração | 44 |
| 3.3 | Tipificação molecular dos genes HLA-DQA1, DQB1 e DRB1 | 49 |
| 3.4 | Análise das frequências HLA por ancestralidade genômica | 53 |
| 4 | DISCUSSÃO | 58 |
| | CONCLUSÕES | 66 |
| | REFERÊNCIAS | 67 |
| | APÊNDICE – Resultados detalhados das frequências alélicas e haplotípicas HLA..... | 71 |
| | ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido..... | 75 |
| | ANEXO B - Questionário..... | 79 |
| | ANEXO C - Estimativa de ancestralidade genômica individual frente aos clusters inferidos pelo software Structure..... | 111 |
| | ANEXO D - Matriz de distância genética e valores de Fst e P..... | 122 |

INTRODUÇÃO

Alelos de genes do Antígeno leucocitário humano (HLA) foram os primeiros a serem relacionados geneticamente a pré-disposição ou proteção para o desenvolvimento do Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1). Sabe-se que a distribuição mundial do DM1 e a frequência dos alelos HLA variam de acordo com a etnia e localização geográfica. Estudos populacionais afirmam que em populações caucasianas a doença é muito mais comum que em outros grupos étnicos. Entretanto, em outras etnias podem-se observar formas diferenciadas de evolução da doença. Diante da miscigenação da população brasileira, estudos de frequência alélica e associação podem ter seus resultados mascarados por conta do viés que uma estratificação étnica inconsistente pode trazer. Este estudo, portanto, propõe uma análise das frequências de alelos HLA em uma amostra de pacientes com DM1 caracterizados quanto ao seu perfil ancestral através da análise de marcadores autossômicos bi-alélicos de inserção e deleção (AIM – marcadores informativos de ancestralidade).

Epidemiologia

A epidemiologia do DM1 é conhecida por ser heterogênea em relação à geografia e etnia. Há ampla variação na sua incidência em relação à distribuição geográfica, refletindo as diferenças observadas nas frequências alélicas de loci de susceptibilidade/proteção nas populações mundiais (Noble, et al. 2013). A generalização de dados epidemiológicos obtidos sobre DM1 é considerada limitada, pois os estudos são realizados na maioria das vezes a partir de diferentes métodos, tipos de registros e coortes. Há também certa dificuldade em diagnosticar com precisão o DM1 o que pode resultar na inclusão de pacientes com outras formas de diabetes em alguns casos (Sandholzer, 2013).

O DM1 é a forma presente em aproximadamente 10% dos casos de diabetes e a prevalência do DM1 na população mundial está estimada em cerca de 2-5% (Maahs, et al. 2010). Este tipo de diabetes representa ainda 85% (aproximadamente) de todos os casos de diabetes em jovens com menos de 20 anos. Estima-se que 78.000 crianças desenvolvem diabetes tipo 1 no mundo, anualmente. Nos Estados Unidos, cerca de 13.000 crianças são

diagnosticadas por ano. Estima-se que sua incidência vem aumentando em até 5% ao ano e dobrando a cada 20 anos (Daneman, 2006; Denes, et al. 2010; Rewers, 2012).

Muitos dados epidemiológicos sobre DM1 vieram de esforços para criação de um banco de dados padronizado em grandes projetos colaborativos como o EURODIAB, DIAMOND e SEARCH. O EURODIAB abrangeu 17 países da Europa durante o período de 1989 a 2003 registrou 29.311 novos casos de diabetes tipo 1 em crianças de até 15 anos (Patterson, et al. 2009). O programa da Organização Mundial de saúde, DIAMOND ou Projeto Multinacional de Diabetes na Infância foi desenvolvido para investigar e caracterizar a incidência global, a mortalidade e os cuidados de saúde prestados aos pacientes. A taxa de concordância entre esses dois projetos chega a mais de 90%. Infelizmente o DIAMOND não obteve boa abrangência na África, América Central e América do Sul. O SEARCH foi realizado nos Estados Unidos e buscou identificar a incidência e a prevalência do diabetes em jovens com < 20 anos, classificando-os por faixa etária, sexo e raça/etnia. Países em desenvolvimento ainda possuem dados epidemiológicos escassos sobre o DM1.

A incidência de diabetes tipo 1 pode apresentar fortes variações entre diferentes regiões de muitos países, como observado nos Estados Unidos, Romênia e Itália (Ionescu-Tirgoviste, et al. 2004) (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 – Incidência do DM1 a cada 100 mil habitantes ao ano e aumento anual com intervalo de confiança de 95% em países não Europeus

| País | Amostra | Incidência | AA |
|---------------|--------------------------|-------------------|---------------------|
| Austrália | Oeste | 14,9 | 6,3 (2,11 - 10,50) |
| Austrália | Nova Gales do Sul | 19,4 | 2,8 (1,9 - 3,8) |
| Canadá | Ilha do Príncipe Eduardo | 23,5 | 3,2 (-0,33 - 6,38) |
| Canadá | Montreal | 9,3 | 1,6 (-0,67 - 3,82) |
| China | Xangai | 0,7 | 7,4 (2,3 - 12,5) |
| Israel | Yemenite Jews | 5 | 3,2 (2,51 - 3,88) |
| Japão | Hokkaido | 1,7 | 5,9 (4,14 - 7,63) |
| Nova Zelândia | Auckland | 10,1 | 6,4 (4,20 - 8,52) |
| Nova Zelândia | Canterbury | 12,7 | 2,7 (0,05 - 10,50) |
| Peru | Lima | 0,5 | 7,7 (-1,0 - 16,4) |
| EUA | Colorado | 19,4 | 2,3 (1,6 - 3,1) |
| EUA | Havaí | 7,8 | 7,8 (1,8 - 14,9) |
| EUA | Condado de Allegheny | 14,7 | 1,5 (0,21 - 2,83) |
| EUA | Colorado | 12,3 | -0,2 (-2,52 - 2,19) |

Nota: AA= aumento anual. Fonte: Adaptado de Thomas Frese and Hagen Sandholzer (2013).

O mínimo de casos observados é $\geq 0,1/100.000$ habitantes por ano na China e na Venezuela, enquanto na Finlândia e na Sardenha a incidência chega a 52,6/100.000 e 49,3/100.000 habitantes, respectivamente.

Dados do CENSO-IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) 2010 estimam que o Brasil tenha aproximadamente 12.054.827 de diabéticos, considerando todas as formas da doença. A incidência do DM1 no Brasil é de 7,8 casos /100.000 habitantes ao ano, com idade inferior a 20 anos. No país também é possível observar diferenças regionais marcantes. Em Passo Fundo, no Rio Grande do Sul, por exemplo, a incidência é de 12,4 casos /100.000 habitantes ao ano. Presume-se que ocorram em torno de 312 novos casos por ano no Rio Grande do Sul. Um estudo realizado em São Paulo com 469 pacientes revelou predomínio de casos em indivíduos autodeclarados brancos (81,2%), seguido de pardos (15,8%), negros (2,3%) e asiáticos (0,6%) (Alves-Silva, et al. 2000). Entre os períodos de 1980-1990 e 1990-2000 em Brasília, houve um aumento de 3% ao ano na incidência do DM1. Nos anos 80, as crianças mais jovens com diabetes tinham em média 12,5 anos de idade. Na década seguinte, a média de idade passou para 11,5. Nos anos 2000, a média foi para 9,5 com o adendo de que a última década apresentou um segundo pico de incidência, que englobou crianças ainda mais novas, na faixa de 2-4 anos (Castro, 2010).

Tabela 2 – Incidência do DM1 a cada 100 mil habitantes ao ano e aumento anual com intervalo de confiança de 95% em diferentes regiões da Europa

| País | Amostra | Incidência | | AA |
|-----------------|-------------------|------------|-----------|------------------|
| | | 1989-1993 | 1999-2003 | |
| Áustria | Nacional | 9 | 13,3 | 4,3 (3,3 - 5,3) |
| Bélgica | Antuérpia | 10,9 | 15,4 | 3,1 (0,5 - 5,8) |
| Bôsnia | Tuzla canton | 8,9 | - | 15 (6,0 - 25) |
| Croácia | Duas Regiões | 6,9 | - | 9,0 (5,8 - 12,2) |
| República Checa | Nacional | 8,7 | 17,2 | 6,7 (5,9 - 7,5) |
| Dinamarca | Nacional | 22 | - | 3,4 (1,9 - 5,0) |
| Estônia | Nacional | 10,1 | 16,9 | 3,3 (n.s.) |
| Finalândia | Duas Regiões | 39,9 | 52,6 | 2,7 (1,4 - 4,0) |
| Alemanha | Baden-Württemberg | 13 | 15,5 | 3,7 (2,9 - 4,5) |
| Alemanha | Düsseldorf | 12,5 | 18,3 | 4,7 (3,1 - 6,3) |
| Hungria | 18 municípios | 8,8 | 11,5 | 2,9 (1,9 - 3,9) |
| Itália | Sardenha | 37,7 | 49,3 | 2,8 (1,0 - 4,7) |
| Lituânia | Nacional | 7,3 | 10,3 | 3,8 (2,2 - 5,3) |
| Luxemburgo | Nacional | 11,4 | 15,5 | 2,4 (-1,4 - 6,3) |
| Malta | n,s, | 14,7 | - | 0,5 (-2,1 - 3,2) |
| Montenegro | Nacional | 10,8 | 16,3 | 4,6 (0,4 - 9,6) |
| Noruega | 8 municípios | 21,1 | 24,6 | 1,3 (0,1 - 2,6) |
| Polônia | Ka-wice | 5,2 | 13,3 | 9,3 (7,8 - 10,8) |
| Romênia | Bucareste | 4,7 | 11,3 | 8,4 (5,8 - 11,0) |
| Eslováquia | Nacional | 8,2 | 13,6 | 5,1 (4,0 - 6,3) |
| Eslovênia | Nacional | 7,9 | 11,1 | 3,6 (1,6 - 5,7) |
| Espanha | Catalunha | 12,4 | 13 | 0,6 (-0,4 - 0,6) |
| Suécia | Estocolmo | 25,8 | 34,6 | 3,3 (2,0 - 4,6) |
| Reino Unido | Irlanda do Norte | 20 | 29,8 | 4,2 (3,0 - 5,5) |
| Reino Unido | Yorkshire | 17,1 | 22,4 | 2,2 (1,1 - 3,4) |
| Reino Unido | Oxford | 16 | 23,3 | 3,6 (2,6 - 4,6) |

Nota: AA= aumento anual.

Fonte: Adaptado de Thomas Frese and Hagen Sandholzer, 2013.

Diferente da maioria das doenças autoimunes, que afetam preferencialmente mulheres, o DM1 ocorre igualmente em ambos os sexos. Alguns achados particulares em países de alta incidência na Europa relatam maior número de casos em homens. Os Estados Unidos, contrariamente, relata maior número de casos em mulheres (RR 1,028%; IC95%, 1,025-1,030) (Maahs, et al. 2010). Já foi visto também que após a puberdade, o DM1 pode afetar homens mais frequentemente que mulheres (Nystrom, et al. 1990). Em relação à etnia a incidência, de acordo como estudo SEARCH, pode ser observada na tabela 3.

Tabela 3 – Taxas de incidência (por 100 mil habitantes; 95% IC) no período de 2002 - 2005 por idade e etnia

| Raça/Etnia | Idade | | | |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 - 4 anos | 5 - 9 anos | 10 - 14 anos | 15 - 19 anos |
| Branços | 19,4 (17,8, 21,1) | 30,1 (28,1, 32,2) | 32,9 (30,9, 35,0) | 11,9 (10,8, 13,2) |
| Afro-americanos | 12,0 (9,6, 14,8) | 19,3 (16,3, 22,9) | 21,3 (18,3, 24,8) | 9,5 (7,4, 12,0) |
| Hispânicos | 10,2 (8,3, 12,6) | 18,2 (15,5, 21,3) | 18,4 (15,6, 21,5) | 8,7 (6,8, 11,1) |

Fonte: adaptada de Maahs, 2010.

Em 2000, o projeto DIAMOND descreveu maior incidência de DM1 na faixa etária de 10-14 anos de idade em 50 países, com 119.164 casos de uma população total de 75.100.000 crianças. Nos Estados Unidos a incidência foi maior nos grupos etários de 5-9 anos (22,1) e 10-14 anos (25,9), enquanto nos grupos de 0-4 anos e de 15-19 anos a incidência foi respectivamente de 14,3 e 13,1/100.000 habitantes. Segundo o EURODIAB, o número de casos em faixas etárias mais jovens vem aumentando consideravelmente, ao passo que o crescimento anual da incidência no grupo de 0-4 anos foi maior até mesmo que no grupo frequentemente mais afetado, de 10-14 anos (0-4 anos (6,3%, IC95% 1,5-8,5%); 05-09 anos (3,1% IC 95% 1,5-4,8%); 10-14 anos (2,4% IC95% 1,0-3,8%)). Essas taxas declinam após a puberdade e parecem estabilizar em jovens adultos 15-29 anos, apesar de um quarto dos indivíduos com DM1 serem diagnosticados nesta faixa etária (Sandholzer, 2013).

A variação global nos padrões epidemiológicos pode ser justificada por diversos fatores de risco já associados ao DM1. É notável o crescente número de casos principalmente nas faixas etárias mais jovens, o que resulta em indivíduos acometidos por comorbidades cada vez mais precocemente. Estes dados enfatizam a necessidade de buscar informações que auxiliem na elucidação do desenvolvimento do DM1, principalmente em populações não europeias.

Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)

O diabetes mellitus tipo 1 é uma doença caracterizada pela destruição autoimune, progressiva e seletiva das células-β do pâncreas. O pâncreas é uma glândula que apresenta uma porção endócrina e outra exócrina. A porção endócrina é composta por aglomerados

celulares de quatro tipos distintos (α , β , δ e PP - polipeptídio pancreático), somando aproximadamente de 300 mil a 1,5 milhão de células, que formam as ilhotas de Langerhans. As células- β correspondem de 70 a 80% das células presentes nas ilhotas pancreáticas e são responsáveis pela secreção de insulina (Hassan, et al. 2012).

A insulina é um hormônio, armazenado em grânulos no espaço intracelular das células- β , responsável pela redução dos níveis glicêmicos. Em pacientes com diabetes recentemente diagnosticados, é possível visualizar, por microscopia eletrônica, a desgranulação gradual dessas células. A doença torna-se sintomática apenas depois da destruição de aproximadamente 80% das células- β . Esse processo geralmente é lento e pode se desenvolver durante anos (Fernandes, et al. 2005). A partir do quadro de insulite crônica há gradualmente redução do número de células secretoras de insulina que conseqüentemente leva à hiperglicemia, o que aumenta o estresse oxidativo celular, conduzindo à inflamação crônica e ao aumento do risco de desenvolver problemas secundários de saúde associados ao diabetes (Denes, et al. 2010).

A história natural do DM1 inclui quatro estágios distintos:

- I- Estágio pré-clínico: caracterizado pela autoimunidade dirigida contra as células- β , com diminuição aguda e progressiva da resposta insulínica à glicose intravenosa ou oral;
- II- Início clínico do diabetes;
- III- Remissão transitória;
- IV- Diabetes associado a complicações agudas, crônicas e óbito;

Os fatores desencadeantes da patogenia no DM1 ainda são alvo constante de estudos em diversos grupos de pesquisa no mundo. O DM1 é uma doença multifatorial e o seu desenvolvimento é influenciado por uma complexa interação entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais (Sesterheim, 2007; Brorsson, et al. 2011).

Fatores Imunológicos

O desenvolvimento da resposta autoimune no DM1 parece estar relacionado a uma falha no processo de manutenção da tolerância à autoantígenos expressos pelas células- β . Neste caso, há a participação tanto da resposta imune celular (Linfócitos T CD4+, CD8+, Linfócitos B e Células Apresentadoras de Antígeno (APC)) quanto da humoral (autoanticorpos, citocinas pró-inflamatórias) (Fernandes, et al. 2005). Diversos estudos que

visam elucidar os eventos imunológicos envolvidos na patogenia desta doença, utilizam modelos animais de camundongos NOD (“non-obese diabetic”), pelo fato de desenvolverem espontaneamente a doença, mimetizando o processo patológico observado em humanos (Balda; Pacheco-Silva 1999).

A agressão inicial às células- β é mediada pela imunidade celular, concebendo um processo inflamatório denominado insulite. Análises imuno-histoquímicas, de tecido pancreático, revelam que os primeiros tipos celulares a infiltrarem as ilhotas de Langherans são macrófagos e células dendríticas (Fernandes, et al. 2005; Sesterheim, 2007). A destruição é mediada por uma variedade de citocinas liberadas por linfócitos T e B (Hassan, et al. 2012). Os macrófagos ativados que infiltraram o tecido secretam citocinas que estimulam a ativação e a migração de outras células. Linfócitos TCD4⁺ são ativados pela Interleucina-12 (IL-12) (liberada previamente por macrófagos), e por sua vez, liberam Interleucina-2 (IL-2) e Interferon Gama (INF- γ) caracterizando uma resposta imune pró-inflamatória do tipo Th1 (Kunz; Ibrahim. 2009).

A secreção de INF- γ está associada à hiperexpressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I e II pelas células- β que estimula novamente macrófagos a liberar desta vez Interleucina 1- β (IL1- β), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e radicais livres. O primeiro evento relacionado à quebra da tolerância imunológica no DM1 pode ser considerado a apresentação de auto antígenos de células- β pelas APCs, presentes no microambiente inflamatório, para as células TCD4⁺ (Fernandes, et al. 2005). Durante todo esse processo, ocorre a marginação de linfócitos T CD8⁺ (citotóxicos), que representam as células linfocitárias predominantes no processo de insulite. Os linfócitos TCD8⁺ reconhecem peptídeos próprios apresentados pelas moléculas MHC classe I e se diferenciam em linfócitos T citotóxicos efetores. A destruição massiva das células- β ocorre pela liberação de perforinas e granzimas após a ligação Fas-FasL, ocasionando apoptose. Ao longo do tempo, as células- β diminuem de número consideravelmente e paralelamente a intensidade do processo inflamatório é reduzida (Balda; Pacheco-Silva. 1999).

Os linfócitos B também participam do processo de autoimunidade no DM1, seja como apresentadores de antígenos ou com o surgimento de linfócitos B autorreativos. Com a perda dos mecanismos de tolerância imunológica pelos linfócitos B, dá-se início à diferenciação em plasmócitos e à produção de autoanticorpos capazes de fixar complemento contra componentes das ilhotas pancreáticas. Esses anticorpos são encontrados em ampla variedade no soro de aproximadamente 50% de pacientes recém-diagnosticados com DM1. Tais anticorpos têm sido utilizados frequentemente como marcadores da presença de

autoimunidade contra ilhotas pancreáticas, mas parecem ser a causa da lesão de fato (Sesterheim, 2007; Hassan, et al. 2012).

Fatores Ambientais

Relatos sobre a falta de total concordância entre irmãos gêmeos monozigóticos (30-40%) reforçam as hipóteses de que o ambiente influencia na deflagração do DM1 (Pociot, et al. 2010). Alguns dos agentes já relacionados como fatores de risco para o desenvolvimento do DM1 são: variações climáticas e geográficas, infecções virais, dieta infantil (introdução precoce de ingredientes do leite de vaca, cereais e glúten), superantígenos (bacterianos ou virais), toxinas (pesticidas, nitratos), reduzido número de infecções, deficiência na suplementação de vitamina D, administração de vacinas e estresse emocional (Sesterheim, 2007; Brorsson, et al. 2010).

Alguns vírus possuem tropismo pelas células- β , mas não são capazes de induzir uma lesão direta significativa. Infecções virais estão associadas, hipoteticamente, a uma resposta autoimune ocasionada por um fenômeno denominado mimetismo molecular. Neste caso, anticorpos e células T específicas para epítomos virais apresentam reação cruzada com as células- β , devido à similaridade entre a sequência de aminoácidos virais e peptídeos próprios celulares (Couper, 2001; Fernandes, et al. 2005).

Mais de 10 vírus já foram apontados como possíveis responsáveis pelo desencadeamento da autoimunidade no DM1 devido à similaridade da sequência de aminoácidos virais com peptídeos próprios. Em particular, os vírus mais relacionados são: Coxsackie B, Rotavírus e Citomegalovírus. Estudos realizados para detecção do RNA viral no sangue periférico de pacientes diabéticos, recentemente diagnosticados, revelaram que cerca de 40 a 60% desses pacientes possuem genoma viral de Coxsackie B4 ou B3 (Azambuja, et al. 2010; Kanatsuna, et al. 2012). Kruger, et al (2011), sugerem que após uma infecção viral, o desenvolvimento do DM1 pode estar ligado ao microambiente pró-inflamatório presente nas ilhotas pancreáticas. Embora os mecanismos exatos que ligam as vias de sinalização pró-inflamatórias com a destruição das células β ainda sejam desconhecidos.

Atualmente, diversos estudos epigenéticos buscam verificar associações entre a influência ambiental e genética na predisposição a doenças multifatoriais. Mecanismos epigenéticos são capazes de provocar alterações na expressão gênica sem provocar mutações,

envolvendo a metilação do DNA, modificações em histonas e RNAs não codificantes. Tais alterações podem influenciar na deflagração do DM1 e na predisposição ao desenvolvimento de complicações mais graves em resposta ao estresse hiperglicêmico crônico em doenças vasculares (Bell, et al. 2010).

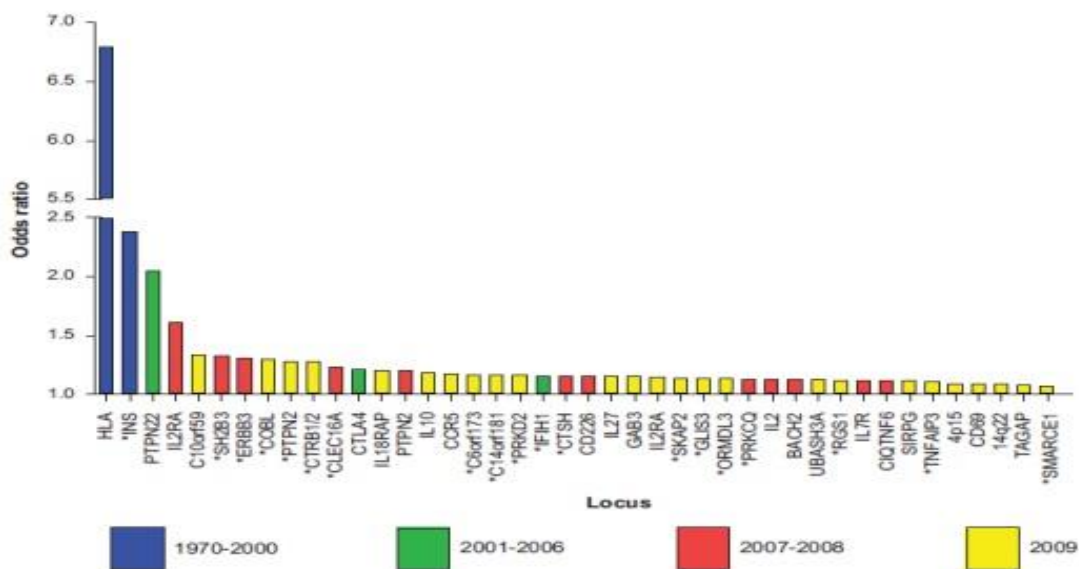
Estudos de associação à escala epigenoma (EWAS), tem verificado variações na metilação de regiões promotoras CpG de gêmeos monozigóticos com DM1, sugerindo variações epigenéticas mesmo na ausência de heterogeneidade genômica (Rakyan, et al. 2011). Miao et al 2008 (Miao, et al. 2008) identificou, em linfócitos de pacientes com DM1, um aumento na metilação da região promotora do gene CTLA4 responsável pela produção de uma proteína que transmite um sinal inibidor, regulando negativamente células T.

A participação de componentes não genéticos na suscetibilidade ao diabetes se mantém indefinida, diante disso, diversos estudos que buscam associar variações epigenéticas à etiologia do DM1 se mostram de suma importância para que haja maior entendimento sobre as mudanças fenotípicas, influenciadas pelo ambiente (Rakyan, et al. 2011).

Suscetibilidade genética

Diversos genes são pesquisados e associados ao DM1, caracterizando-a como uma doença poligênica. Atualmente mais de 50 genes são relacionados significativamente à predisposição a doença. Até então, os genes HLA são os que apresentam maiores evidências de associação com o DM1, representando até 50% da contribuição genética para o seu desenvolvimento (genes IDDM1- insulin dependent diabetes mellitus group 1) (Figura 1).

Figura 1 – Principais genes estatisticamente associados ao DM1 e seus riscos relativos de 1970-2009 e suas respectivas forças de associação (Odds Ratio)



Fonte: Pociot et al, 2010.

Outros genes não-HLA localizados no MHC e também fora desta região podem ser associados ao DM1. Dos genes não-HLA, na região MHC, merecem destaque os genes codificadores das proteínas do complemento C4A e C4B e o TNF- α . O TNF- α tem sido exhaustivamente estudado e associado ao DM1, porém ainda apresenta resultados controversos. Esta citocina é um potente imunomodulador e possui atividade pró-inflamatória significativa na destruição de células- β pancreáticas. A proximidade com a região HLA e a falta de ajuste para desequilíbrio de ligação (LD) em diversos estudos de polimorfismos nos genes desta citocina, geraram fortes associações com diabetes em diferentes populações no mundo. Estudos mais recentes, que consideraram o desequilíbrio de ligação (LD) com a região HLA classe II (DR e DQ), não encontraram associações tão relevantes (Noble; Valdes, 2011).

Aproximadamente 15% da suscetibilidade ao DM1 é associada a genes localizados fora da região MHC (Daneman, 2006). Embora ainda haja discordância quanto à associação de alguns desses genes candidatos (IDDM2 - insulin dependent diabetes mellitus group) com o DM1, depois dos genes HLA, a associação genética mais relevante é com o gene da insulina (Pociot; McDermott, 2002; Erlich, et al. 2008). O gene da insulina está localizado no cromossomo 11p15.5 e possui 3 classes de alelos com um número variável de repetições in tandem (VNTR). Os alelos curtos (classe I) conferem predisposição para DM1 e os alelos longos (classe III) estão associados à proteção (Fernandes, et al. 2005). Essas

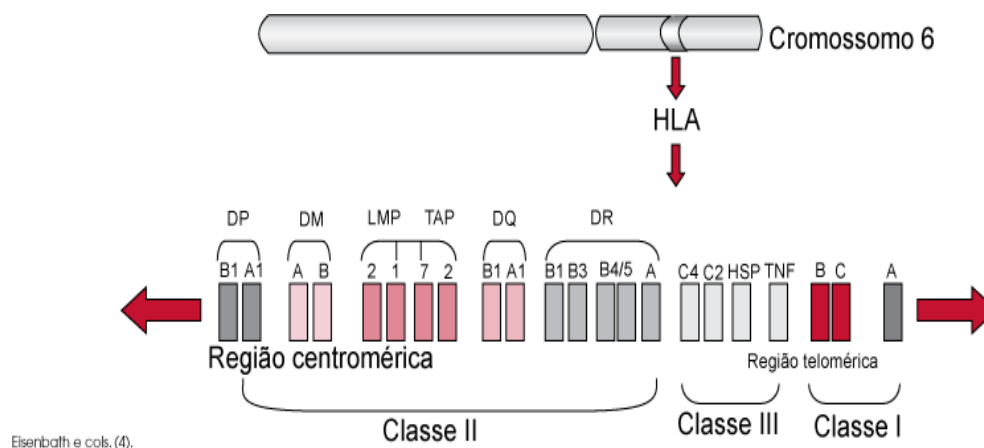
variações alélicas são responsáveis pela diferença nos níveis de expressão de insulina que podem influenciar na seleção tímica dos linfócitos T (Pugliese, 2005).

O Antígeno leucocitário Humano (HLA)

Os genes que codificam os Antígenos Leucocitários Humanos (HLA) estão situados em uma região denominada Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) no braço curto do cromossomo 6p21. Esta região compreende pelo menos 3,4 Mb de DNA contendo até 420 genes e 40% dos genes expressos parecem ter função na resposta imune (Pociot, et al. 2010; Fallahi, et al. 2012). Os genes que codificam o HLA foram os primeiros a serem associados geneticamente com o DM1 (Valdes, et al. 2013).

A região MHC é a mais polimórfica do genoma humano, com mais de 13 mil alelos HLA descritos até este ano (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html>). Presume-se que o extenso polimorfismo observado nesta região seja resultado de pressões seletivas nas populações, sendo uma adaptação funcional, modulada principalmente por vírus, bactérias e parasitas (Zúñiga, et al 2013). Seus genes encontram-se agrupados em 3 regiões distintas chamadas de classe I, II e III (Figura 2).

Figura 2 – Representação esquemática das regiões do MHC e seus principais genes

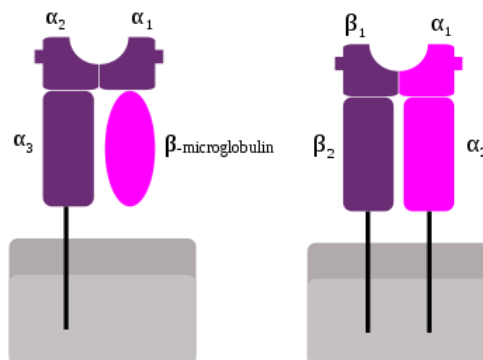


Fonte: Eisenbath e cok.

A região denominada Classe I é a mais próxima do telômero, nela estão os genes que codificam as moléculas de HLA clássicas HLA-A, HLA-B e HLA-C e também as não-clássicas HLA-E, HLA-F e HLA-G. A região de classe II está localizada próxima do centrômero e contém os genes que codificam as moléculas clássicas HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP, além das não-clássicas HLA-DM e DO. As regiões gênicas Classe I e II flanqueiam a região denominada classe III que contém alguns genes de relevância imunológica. Os genes do MHC estão intimamente envolvidos na resposta imunológica e são ideais para estudar marcadores de diversidade genética, suscetibilidade a doenças e alo transplantes (Abbas, 2007; Zúñiga, et al 2013).

As moléculas de classe I e II são homólogas, mas estruturalmente distintas. Ambas são heterodímeros, constituídos por duas cadeias polipeptídicas ligadas de forma não covalente (Figura 3). Apresentam uma região intracelular denominada "cauda", região transmembrana e a porção extracelular que forma uma fenda em sua extremidade para acomodar peptídeos antigênicos a serem apresentados ao sistema imune.

Figura 3 – Representação esquemática estrutural das moléculas HLA classe I e II na membrana celular



As moléculas HLA classe I são monômeros alfa, compostos por três domínios (α_1 , α_2 e α_3). Os domínios α_1 e α_2 formam a fenda de ligação da molécula de classe I que é fechada, sendo capaz de acoplar peptídeos de 6-10 aminoácidos. Para ser expressa na superfície celular a molécula de Classe I precisa estar associada covalentemente a uma cadeia β_2 -microglobulina, codificada por um gene localizado no cromossomo 15. As moléculas de Classe I são responsáveis pela apresentação de peptídeos intracelulares aos linfócitos TCD8+ e estão presentes em praticamente todas as células nucleadas do corpo humano e até mesmo em plaquetas.

As moléculas HLA classe II são formadas por heterodímeros α e β , os domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ formam a fenda de ligação que é capaz de acoplar peptídeos um pouco maiores, contendo de 12-30 aminoácidos, por ser aberta nas extremidades. As moléculas de classe II apresentam peptídeos extracelulares a linfócitos TCD4+. Em condições normais, onde não há desafio ao sistema imune, as moléculas HLA classe II são expressas apenas em células endoteliais do timo e APCs, tais como: células dendríticas, macrófagos, linfócitos B e linfócitos T (quando ativados) (Abbas, 2007; Semzezem, 2009). A maior parte do polimorfismo observado nas moléculas HLA se concentra na região da fenda de ligação.

Há quase 40 anos são realizados estudos de associação da região HLA com DM1. Notavelmente, os alelos de moléculas HLA classe II, DR e DQ, possuem um papel central na suscetibilidade ao diabetes (Bradfield, et al. 2011). O exato mecanismo pelo qual as moléculas de classe II conferem suscetibilidade à destruição imuno-mediada nas ilhotas pancreáticas ainda não é conhecido em sua totalidade, mas a ligação de peptídeos-chave a partir de autoantígenos, como por exemplo: pré-proinsulina e GAD, com moléculas HLA classe II do timo e da periferia parecem desempenhar um papel relevante. Teoricamente, esse processo de apresentação de antígenos e ativação das células T, pode ter uma abordagem terapêutica futura efetiva para prevenção do DM1.

Na prática clínica, a identificação de alelos HLA pode ser utilizada para identificar pessoas com risco de desenvolver DM1 e para inclusão e exclusão em estudos e ensaios clínicos. A suscetibilidade a doença é atribuída principalmente a determinadas combinações específicas de alelos HLA-DRB1-HLA-DQA1-HLA-DQB1, tais como DRB1*03:01, DRB1*04, DQA1*05:01, DQB1*02:01 e heterozigotos DQA1*03:01-DQB1*03:02. Alguns outros alelos, como DQA1*01:02 DQB1*06:02, DRB1*14:01, podem ser considerados protetores ou de resistência (Pociot, et al. 2010). Mais recentemente, os loci DQA1 e DQB1 que codificam as cadeias alfa e beta do heterodímero DQ, foram associados a efeitos muito predisponentes ou muito protetores. Os heterodímeros que são DQ α Arg52-positivas e DQ β Asp57-negativas representam alto risco genético para o diabetes tipo 1. Os haplótipos mais predisponentes são DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01G e DRB1*04:01/2/4/5-DQA1*03:01-DQB1*03:02 com Odds Ratio > 3,0 e > 8,0, respectivamente. Outros haplótipos fortemente protetores são: DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02 (OR = 0,03) e haplótipos DR7: DRB1*07:01-DQB1*02:01-DQB1*02:01G (OR = 0,32) e DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*03:03 (OR = 0,02) (Noble, et al. 2011).

Devido ao alto polimorfismo nesta região do genoma humano, a genotipagem de alta resolução previne que o efeito relacionado a algum alelo HLA seja enganoso. Os alelos

DRB1*04 e DQB1*03:02, por exemplo, são considerados de alto risco, já os alelos DRB1*04:03 e DQB1*03:01 são considerados protetores, divergindo dos alelos de risco apenas em alguns aminoácidos nas suas sequências. Indivíduos heterozigotos DR3/DR4 estão relacionados a um risco muito mais elevado do que homozigotos DR3/DR3 e DR4/DR4 (Noble; Valdes, 2011).

O Diabetes Tipo I Genetics Consortium (T1DGC), é uma organização internacional de colaboradores com a finalidade de criar um repositório para identificar loci genéticos que contribuem com o risco de desenvolver o DM1 a partir de mais de quatorze mil amostras genotipadas. Os resultados relatam que alelos classe II DPB1, também influenciam na suscetibilidade ao DM1. Os alelos DPB1*02:02 e DPB1*03:01 representam risco aumentado para desenvolvimento da doença, enquanto DPB1*04:02 apresenta risco diminuído. Esses resultados foram obtidos após o ajuste do desequilíbrio de ligação (LD) do HLA-DPB1 (associação não aleatória entre genes) com os loci de codificação HLA-DRB1 e DQB1 (Varney, et al. 2010). Segundo Brorsson, et al (2010), o alelo HLA B*39 também apresenta indícios de influência sobre a suscetibilidade ao DM1, independentemente dos alelos DR/DQ. Apesar de os loci de susceptibilidade e resistência associados ao diabetes terem sido mapeados há muitos anos, dados inerentes à distribuição e efeito desses alelos em minorias étnicas (como africanos e latino americanos) ainda são escassos (Black, et al. 2013)

Influência da ancestralidade no DM1

O diabetes tipo 1, como pôde ser visto, é uma doença causada por uma interação complexa entre diversos fatores ambientais e genéticos. Apesar de ter um papel ainda pouco compreendido, a contribuição da raça/etnia parece influenciar substancialmente no DM1 e suas complicações. A incidência do DM1 é quatro vezes maior em brancos americanos do que em afro-americanos, enquanto no diabetes Tipo 2, a incidência é de 1,4 a 2,3 vezes maior em afro-americanos (Marshall, 2005). O diabetes é naturalmente considerado um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e renais, mas diferenças nas taxas de mortalidade, idade ao diagnóstico e complicações como dislipidemia, obesidade e hipertensão arterial sistêmica podem ser mais graves de acordo com a origem étnica. Afro-americanos, por exemplo, apresentam maior risco para o desenvolvimento de complicações do que brancos europeus, em particular, nefropatia (Noble, et al. 2013).

Combinações de haplótipos e alelos HLA específicos variam entre os principais grupos étnicos ou regiões geográficas, estas variações podem ser utilizadas como medida da diversidade genética no MHC, mas pouco se sabe sobre a distribuição em populações não caucasianas e miscigenadas (Zúñiga, 2013). Estudos realizados em populações africanas revelam maior diversidade haplotípica nesta população do que a observada em europeus (Noble, et al. 2013). Lipton e cols, (2011), analisaram os polimorfismos nos genes HLA-DQA1 e -DQB1 em 222 haplótipos de uma população multiétnica DM1. No total 143 (64%) dos haplótipos eram de suscetibilidade, 26 (12%) neutros, 30 (14%) de proteção e 25 (11%) indefinidos. Em africanos foram observados 102 haplótipos diferentes, desses, 52% de eram suscetibilidade, 13% neutros e 20% de proteção. Em brancos foi observado 60 haplótipos, 73% eram de suscetibilidade, 15 neutros 10 de proteção e um indefinido. Em 44 haplótipos relatados em latinos 75% eram de suscetibilidade, 9% neutros e 5% de proteção. Estes dados além de exemplificarem a maior diversidade observável na população africana ainda mostram que ocorreram consideravelmente menos haplótipos de risco do que o esperado para uma população DM1.

Dados sobre as disparidades observadas nas frequências de alelos e haplótipos HLA de acordo com a raça/etnia no DM1 também estão disponíveis. Apesar de a maioria dos estudos não caracterizarem bem etnicamente a população, utilizando apenas a autodeclaração, foram obtidos achados relevantes e o interesse sobre a distribuição dos polimorfismos e seus efeitos clínicos nos diferentes grupos étnicos é crescente. A existência de efeitos diferenciais de acordo com idade ao diagnóstico e sexo também permanecem pouco explorados (Howson, et al. 2012).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos com 1662 pacientes DM1 foi possível observar diferenças significativas na distribuição dos haplótipos DRB1-DQB1 de acordo com a etnia. A presença do haplótipo DRB1*04:01-DQB1*03:02 representou neste estudo maior suscetibilidade em brancos do que em negros ou latino-americanos. O haplótipo DRB1*04:05-DQB1*03:02 foi significativamente mais frequente em negros do que brancos, enquanto, DRB1*04:07-DQB1*03:02 apareceu apenas em latino-americanos. DRB1*09:01-DQ*02:01 e DRB1*09:09-DQB1*02:02 não diferiu entre negros e brancos e o haplótipo DRB1*03:01- DQB1*02:01 também não diferiu entre as raças declaradas na população testada. O autor relata também que o haplótipo considerado protetor DRB1*04:01-DQB1*03:01 foi modestamente mais frequente em brancos DM1, enquanto o também protetor DRB1*07-DQB1*02:02 foi relativamente mais frequente em negros (Black, et al. 2013).

Uma particular discrepância nos efeitos sobre o DM1 e a etnia pode ser observada com haplótipos DR7. Presente apenas em populações africanas, o haplótipo DRB1*07:01-DQA1*03:01-DQB1*02:01G é intimamente relacionado a pré-disposição, enquanto o DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*02:01G, muito comum em populações europeias, foi relatado em vários estudos como um haplótipo de proteção. O alelo africano DQA1*03:01 codifica uma cadeia DQ α que é Arg52-positiva, ao passo que o alelo europeu DQA1*02:01 é Arg52-negativo, explicando por quê da molécula DQ do haplótipo africano ser mais fortemente relacionada a pré-disposição. Tal fenômeno pode ser justificado por conta das diferenças no repertório de ligação de peptídeos e/ou afinidade de ligação para os dois heterodímeros DQ que podem afetar na suscetibilidade ao DM1. Entretanto, caucasianos DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*02:01G que possuem no outro cromossomo o alelo DQA1*03:01 mostraram ser significativamente mais afetados (49% vs 35%, $p < 0,035$). Notavelmente, a grande maioria (89%) dos que possuem DQA1*03:01 em um cromossomo e o DR7 em outro são DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02, que transmite, em si, um risco muito elevado (Noble, Johnson et al. 2011). Maior parte da suscetibilidade deve-se provavelmente à molécula DQ codificada pelos alelos DQA1*03:01-DQB1*02:01G e aumento do risco pode ser visto quando estes dois alelos são codificados quer em cis (como no DR7 Africano) ou em trans (DR3/DR4 europeu). Resumidamente, o alelo DQA1*03:01 é de tão alto risco que na sua presença o haplótipo DR7, antes considerado protetor em caucasianos apresenta uma mudança de comportamento, independente de ser codificado em cis ou trans. Este tipo de resultado ilustra o valor de estudos de associação HLA e doenças que comparam dados entre diferentes grupos étnicos (Noble, et al. 2011).

Outro estudo com 772 casos de DM1 e 1641 controles, realizado em afro-americanos, nos Estados Unidos associou significativamente (positiva ou negativamente) 18 haplótipos a esta população. Alguns já haviam sido bem documentados na população caucasiana como predisponentes (DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01G; DR4:DRB1*04:01/02/04/05/08-DQA1*03:01-DQB1*03:02/02:01G) ou protetores (DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02 e DRB1*14:01-DQA1*01:01-DQB1*05:03). Os principais haplótipos predisponentes não derivados de populações europeias observados nesta população incluem: DRB1*16:01-DQA1*01:02-DQB1*05:02, DRB1*13:03-DQA1*03:01-DQB1*02:01G, DRB1*09:01-DQA1*03:01-DQB1*02:01G, e DRB1 * 07:01-DQA1*03:01-DQB1*02:01G. Os de proteção, não derivados de caucasianos foram: DRB1*13:03-DQA1*02:01-DQB1*02:01G; DRB1*13:03-DQA1*05:01-DQB1*03:01; DRB1*08:06-DQA1*01:02-DQB1*06:02; DRB1*08:04-DQA1*04:01-DQB1*03:01; DRB1*03:02-

DQA1*04:01-DQB1*04:02. Outras particularidades relacionadas ao haplótipo DQA1*03:01-DQB1*02:01G foram relatadas. O DQA1*03:01-DQB1*02:01G surgiu significativamente associado ao risco quando combinado com DRB1*04:05, 07:01, 09:01 ou 13:03, neste último, com um OR=12,8. Os alelos DRB1*15:03 e 11:01 na presença de DQA1*03:01-DQB1*02:01G foram considerados haplótipos protetores, mas ainda assim, foram vistos mais vezes em casos do que controles (mas sem significância estatística). Esses achados confirmam relatos anteriores de que DQA1*03:01-DQB1*02:01G é altamente predisponente, sendo capaz de mudar o efeito protetor do DR7 europeu quando combinado com algum haplótipo DRB1*04/DRB1*03 ou DQB1*05:01. O haplótipo DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01G confirmou novamente este fenômeno, sendo capaz de modestamente mudar o efeito protetor do DR7 europeu na população estudada (OR=2,05). O haplótipo de risco - DQA1*03:01-DQB1*02:01G (OR=3,17) teve notavelmente o risco elevado quando combinado com outro genótipo DR4 (DRB1*04:05 - OR=65,10 ou DRB1*04:01 - OR=34,40) (Noble, et al. 2013).

Esses dados chamam atenção não só para as frequências observadas nas diferentes populações, mas também para o efeito que a combinação de determinados haplótipos pode ter, aumentando incrivelmente o risco relacionado à doença mesmo na presença de haplótipos protetores. Algumas publicações buscam entender a distribuição de genes associados ao DM1 com complicações e apresentações clínicas, considerando a composição ancestral. Rowson, et al (2012), em seu estudo relatou associação da idade ao diagnóstico com HLA-DRB1*03/DRB1*04 e alelos de classe I A*24 e B*39. O início precoce da doença consequentemente aumenta a sua duração levando à complicações em indivíduos mais jovens, o que representa uma redução na expectativa e qualidade de vida naqueles que são acometidos, além de elevar gastos com saúde (Noble, et al. 2013).

Há relatos também, de que negros são mais propensos a desenvolver anticorpos para GADA, enquanto brancos e hispânicos tem maior propensão a desenvolver IA-2A. A ocorrência de cetoacidose diabética no início da doença foi mais frequentemente associada à ancestralidade africana e minorias étnicas nos EUA (negros e hispânicos) que apresentam também maior sobrepeso e obesidade (Black, et al. 2013). Associando informações genéticas de HLA à pesquisa da presença de auto-anticorpos no DM1, foi possível observar que o haplótipo de pré-disposição DRB1*03-DQB1XX está relacionado significativamente a títulos positivos de anticorpos GADA e IA-2A (OR=1, 82) e a média de idade inicial da doença em indivíduos brancos. Em hispânicos o haplótipo DRB1*04-DQB1*03:02 pôde ser associado a altos títulos de anticorpos e maior probabilidade de cetoacidose diabética no início da doença.

Alguns haplótipos de susceptibilidade parecem ter também algum efeito sobre características clínicas. Em negros, o DRB1*01 esteve relacionado à probabilidade 3 vezes maior de desenvolver cetoacidose diabética no início da doença (OR= 3,62), enquanto em brancos portadores deste mesmo alelo foi observado um início mais tardio da doença quando comparado com indivíduos não-portadores deste alelo. Haplótipos considerados modestamente protetores em brancos como DRB1*04-DQB1*03:01 e DRB1*0701DQB1xx foram associados à maior titulação de anticorpos (OR=1,98) e início mais tardio da doença. O alelo DRB1*13, mais frequente em negros e brancos do que em hispânicos e mostrou-se protetor para cetoacidose diabética de com baixa titulação de anticorpos. Este alelo representou até 57% menos chance de se observar títulos de anticorpos positivos em negros. Cada vez mais surgem relatos de alelos antes não considerados de risco e que recentemente foram associados a alguma apresentação clínica específica em determinada raça/etnia (Lipton, et al. 2011; Black, et al. 2013).

AIMs aplicados na genética clínica

Marcadores genéticos específicos para a caracterização étnica de diferentes populações são denominados marcadores informativos de ancestralidade (AIMs). Os AIMs bi-alelicos de inserção e deleção estimam eficientemente proporções de origem ancestral individual ou global, mesmo em populações miscigenadas, a partir da análise de loci com frequências alélicas discrepantes entre regiões geográficas e etnias. Diversos AIMs já foram descritos, sendo possível realizar análises de inferência de ancestralidade a partir de diferentes tipos de polimorfismo (Pereira, et al. 2012; Manta, et al. 2013).

Hoje é possível observar nitidamente diferenças fenotípicas entre as populações (como a pigmentação da pele), mas isso é resultado de um longo processo de seleção natural, mutação e deriva genética que ocorreu moldado pelas migrações, ambiente, clima, tipo de alimentação e nutrientes disponíveis, fatos históricos e agentes patogênicos e infecciosos (Suarez-Kurtz, et al. 2007). Algumas variações genômicas são mais frequentes ou específicas em determinadas populações, por isso, um alelo pode ser muito comum em uma população e raro em outra, explicando as diferenças muitas vezes observadas na prevalência de doenças entre as populações. As razões de algumas variantes sofrerem seleção positiva em uma população e em outras não, podem ser: A) O surgimento recente de um alelo que ainda não

teve tempo de se espalhar para outras populações, como no caso do SNP responsável pela hemocromatose hereditária, que é comum na Europa, mas raro em outros lugares. B) Seleção natural ocorrida em um local específico influenciada pelo ambiente, como a persistência da lactase, que é prevalente mesmo na idade adulta em pastores de camelos somali da Etiópia, por conta do consumo de leite até a idade adulta (Freedman, et al. 2013).

O genoma humano é composto de três mil milhões de bases de DNA e contém aproximadamente de 25.000 a 30.000 genes que codificam proteínas, no entanto, entre dois seres humanos quaisquer, observamos uma variabilidade de apenas 0,1% por todo o genoma e este pequeno percentual é responsável pela diferenciação entre os indivíduos. Desta variação de 0,1%, 80 a 90% é interindividual e somente de 10% a 20% da variação total é inter-étnica (Freedman, et al. 2013; Mersha; Abebe, 2015).

Populações próximas geograficamente apresentam em média maior similaridade genética que populações distantes, mas vários estudos demonstraram que também é possível observar diferenças relevantes dentro de regiões geográficas próximas. Um exemplo da grande variação que pode haver dentro de populações (que teoricamente deveriam ser próximas geneticamente) foi relatado na prevalência do alelo HLA-B*57:01, no qual foi observada uma drástica diferença na frequência deste alelo entre duas populações africanas. No grupo Masai, no Quênia, a prevalência deste alelo é de 13,6% enquanto no grupo Yoruba, da Nigéria, é zero. Em populações de ascendência europeia, teoricamente mais distante geneticamente, a frequência observada do mesmo alelo é de 5,8%, revelando maior proximidade nesta região genômica em especial (Mersha; Abebe, 2015).

Diversos estudos, como os projetos Hap Map e 1000 genomas, buscam compreender a variabilidade genômica a nível geográfico, catalogando em diferentes populações frequências de SNPs, Indels, elementos móveis, dentre outros polimorfismos, criando um extenso banco de dados. Não obstante, populações miscigenadas ainda estão sub-representadas nos bancos de dados mundiais. Cerca de 90% dos estudos realizados foram em populações europeias, ancestralmente homogêneas e expostas a fatores ambientais similares. Existem várias particularidades genéticas que tornam interessantes estudos que buscam associar fenótipos de doenças em populações não caucasianas e miscigenadas (Wassel, et al. 2009; Shriner, et al. 2011; Mersha ; Abebe, 2015).

A população brasileira é considerada uma das mais miscigenadas do mundo e tem origem ancestral tri-híbrida, formada basicamente por europeus, africanos e ameríndios. Devido aos padrões de imigração geograficamente desordenados o Brasil ainda apresenta diferenças ancestrais regionais marcantes, mas em todas as regiões é possível observar uma

predominância de ancestralidade europeia. Entretanto, por conta da predominante assimetria nas relações, a ancestralidade matrilinear (relacionada ao DNA mitocondrial - mtDNA) ainda se mantém majoritariamente de origem genética ameríndia e africana (Pena, et al. 2009; Durso, et al. 2014).

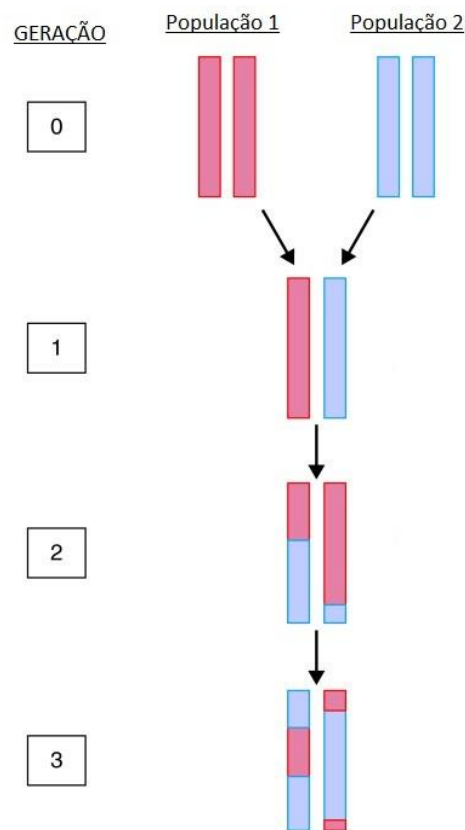
A mistura entre diferentes grupos étnicos cria um mosaico cromossômico, devido ao efeito cumulativo que ocorre nas meioses. Com isso, diferentes proporções ancestrais são herdadas das populações parentais e as mesmas variam de um cromossomo para outro, contribuindo para que cada indivíduo apresente um grau de mistura particular (figura 4) (Shriner, et al. 2011). Mesmo quando um alelo causal tem frequência similar entre todas as raças/etnias o estudo em diferentes populações ainda pode ser útil, como no caso do Alzheimer, que apresenta um risco diferenciado no desenvolvimento da doença quando um alelo relacionado à pré-disposição (e que possui frequência similar em todas as populações) está presente em homozigose (apoEE4). Nesse caso, o risco da doença se manifestar é 33 vezes maior em japoneses, 15 em caucasianos e 6 em africanos (Burchard, et al. 2003; Cooper, et al. 2003).

Em populações miscigenadas podemos observar a presença de maior polimorfismo, pois há a presença de alelos de diferentes origens ancestrais, além de uma distribuição de frequências alélicas e haplotípicas substancialmente diferente da observada nas populações parentais, afetando conseqüentemente a frequência de marcadores genéticos e variantes funcionais utilizados em pesquisas de associação e mapeamento genômico. Expandir os estudos genéticos humanos em populações miscigenadas pode ser útil para: I- identificar novos loci ausentes ou não facilmente detectáveis em populações europeias devido a baixas frequências e ao baixo poder estatístico resultante; II- estudos de desigualdade e acesso a serviços de saúde; III- compreender melhor a base étnica em doenças mendelianas e complexas (Shriner, et al. 2011).

A aplicação da ancestralidade já é realidade no tratamento de doenças como hipertensão, asma e hepatite C. Disparidades bioquímicas e metabólicas também já foram relatadas, como no caso dos níveis de 25-hidroxi vitamina D (pré-hormônio convertido no rim na forma ativa da vitamina D - ajuda a controlar os níveis de fosfato e cálcio), que em afrodescendentes possui normalmente níveis mais baixos que europeus, sem representar algum tipo de carência. Em afro-americanos também foi observado níveis mais baixos de adiponectina, um importante protetor cardio-metabólico (Freedman, et al. 2013; Bidulescu, et al. 2014; Mersha; Abebe, 2015).

As disparidades raciais e étnicas na prevalência de doenças e os diferentes fenótipos observáveis são resultados integrados de fatores genéticos e ambientais. Informações genéticas de ancestralidade muitas vezes são ignoradas na tentativa de se evitar viés (no caso de auto-declaração) ou algum tipo de preconceito, mas podem ser uma variável expressiva tanto no diagnóstico quanto no tratamento de diversas doenças, influenciando diretamente no seu desfecho clínico.

Figura 4 – Representação esquemática do mosaico cromossômico observado em populações miscigenadas



Um bom exemplo do efeito que a classificação étnica inadequada pode trazer está presente em um trabalho publicado por Schlesinger em 2013. O autor utilizou marcadores informativos de ancestralidade contrariando o que até então havia sido observado em diversas publicações. Os estudos anteriores foram embasados em associações genéticas, ambientais e autodeclaração e havia um consenso ao afirmar que afro-americanos eram mais frequentemente diagnosticados com Alzheimer do que caucasianos. Com a utilização de

AIMs, neste estudo, foi possível perceber que a ancestralidade Africana era na verdade altamente protetora do ponto de vista neuropatológico no Alzheimer (relacionada à formação diminuída de placas neuríticas). O autor atribui esta discrepância a possível mistura ancestral europeia, significativa nas populações de afro-americanos estudadas anteriormente, fatores culturais e ambientais que podem influenciar no rastreo realizado em testes cognitivos ou a uma autoclassificação étnica inadequada, pois o mesmo observou que alguns indivíduos incluídos na sua pesquisa, autodeclarados brancos apresentavam genomicamente até 70% ou mais de origem ancestral africana, enquanto alguns autodeclarados não brancos (hispânicos ou afro-americanos) obtiveram mais de 99% de ancestralidade europeia.

Alguns outros estudos já foram publicados relacionando a influência da ancestralidade em doenças como: diabetes mellitus tipo 2, glomeruloesclerose segmentar focal, aterosclerose, osteoporose, demência, nefropatia por imunoglobulina A, câncer de mama, lúpus eritematoso, sistêmico, resistência a malária entre outros (Umaima Al-Alem, 2014; Freedman, 2013; Richman, 2013; D Schlesinger, 2013; Flores, 2012; Ching-Yu Cheng, 2012; Wassel, 2009).

Esta breve revisão enfatiza que mesmo depois de mais de 40 anos de estudos de associação com DM1 ainda existe muito a ser desvendado do ponto de vista genético no desenvolvimento desta doença e seus efeitos, principalmente se tratando de grupos étnicos não caucasianos. Praticamente todos os estudos em DM1 se desenvolveram utilizando apenas a autodeclaração como classificação étnica. O uso de marcadores informativos de ancestralidade seria de grande valor para auxiliar a decifrar o componente genético ancestral da população brasileira e identificar corretamente a inclusão desses pacientes nas pesquisas futuras, permitindo uma estratificação populacional mais adequada e o rastreo de alelos relacionados ao DM1 de acordo com a composição étnica individual ao passo que caminhamos rumo à medicina personalizada.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Avaliar a associação de polimorfismos de genes do sistema HLA com a ancestralidade genômica em uma amostra de pacientes com DM1 da população brasileira.

1.2 Objetivos específicos

- a) Estimar a frequência alélica e haplotípica dos genes HLA-DR, -DQA1 e DQB1 em uma amostra de pacientes brasileiros com DM1.
- b) Analisar o perfil de marcadores genéticos de ancestralidade.
- c) Relacionar as estimativas de ancestralidade da população DM1 com o perfil genético ancestral da população brasileira saudável.
- d) Relacionar o indicador clínico de idade ao diagnóstico com as estimativas de ancestralidade e polimorfismos HLA observados.

2 METODOLOGIA

2.1 Caracterização do estudo

Trata-se de um estudo multicêntrico transversal de Diabetes Tipo 1 realizado na população brasileira (projeto CNPQ Edital n°42/2010; processo 563753/2010-2) sob coordenação geral da Prof. Dra Marília de Brito Gomes. Os centros participantes e seus respectivos coordenadores estão relacionados no Quadro 1. O projeto aborda características clínicas e genéticas do diabetes tipo 1. As análises genéticas são realizadas em parceria entre o Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e o Laboratório de Diagnóstico por DNA da UERJ sob coordenação dos professores Dr Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Porto e Dr Dayse Aparecida da Silva, respectivamente. Todos os indivíduos incluídos no estudo são acompanhados rotineiramente em ambulatórios especializados nos centros participantes e foram devidamente orientados de forma verbal e através de um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (**Anexo A**).

Quadro 1– Centros participantes do estudo

| UF/Cidade | Centro | Coordenador |
|-------------------|--|------------------------|
| RJ-Rio de Janeiro | UERJ | Profa Marília Gomes |
| RJ-Rio de Janeiro | UFRJ | Profa Melanie Rodacki |
| SP-São Paulo | UNIFESP | Prof Sergio Dib |
| SP-São Paulo | USP | Profa Maria Giannella |
| SP-Campinas | UNICAMP | Profa Elizabeth Pavin |
| SP-Bauru | Associação Diabetes Bauru | Dr Carlos Negrato |
| CE-Fortaleza | UFCE | Prof Renan Montenegro |
| CE-Fortaleza | Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão | Profa Adriana Forti |
| BA-Salvador | Centro de Diabetes e Endocrinologia do Estado da Bahia | Dr Reine Fonseca |
| PA-Belém | Hospital Universitário João de Barros Barreto | Prof João Felício |
| DF-Brasília | Hospital Regional de Taguatinga | Dra Hermelinda Pedrosa |
| PR-Curitiba | Hospital Universitário de Curitiba | Profa Rosangela Réa |
| RS-Porto Alegre | UFRGS | Profa Mirela Azevedo |

2.2 População estudada

Os pacientes do estudo são indivíduos de população brasileira miscigenada, portadores de diabetes mellitus (DM1) em acompanhamento médico em ambulatórios dos Serviços ou das Instituições listadas no quadro I.

Da amostra total do projeto supracitado, estimada em 2000 indivíduos, todos foram avaliados clinicamente e demograficamente. Destes, 972 apresentavam até junho de 2015 esses dados tabulados e o processo de genotipagem completo sendo, portando, essa amostra incluída no presente trabalho.

2.3 Critérios de inclusão e exclusão

Para serem incluídos no estudo, os pacientes diagnosticados com DM1 deveriam ser acompanhados regularmente no centro por um período igual ou superior a 6 meses e ter no mínimo 5 anos de duração da doença, o que pode ser considerado uma limitação do estudo ao analisar a variável idade ao diagnóstico pois a inclusão de crianças foi limitada. Gestação, lactação, história de quadros infecciosos agudos ou cetoacidose diabética nos três meses anteriores à avaliação foram considerados critérios de exclusão, assim como, alcoolismo crônico, insuficiência cardíaca congestiva, arritmias cardíacas, insuficiência respiratória aguda ou doença pulmonar obstrutiva grave.

2.3.1 Procedimentos de investigação

Todos os pacientes foram submetidos a exames clínicos, exames laboratoriais e avaliação genética, além de outros exames considerados necessários pelo médico.

Foi realizado um inquérito clínico-demográfico através de um questionário padronizado (**Anexo B**) no qual foram coletados dados relativos a sexo, idade (anos), raça, idade ao diagnóstico (anos), tempo de duração do DM1 (anos), dieta (características e adesão), nível de atividade física, tabagismo, consumo de bebida alcoólica, dose diária de

insulina, uso de outras medicações, doenças associadas, fase do ciclo menstrual, data da última menstruação e uso de anticoncepcional oral para mulheres. Esta avaliação foi feita através de um questionário padrão, com os entrevistadores treinados para sua aplicação.

As seguintes variáveis clínicas foram avaliadas: peso (kg), altura (cm), índice de massa corporal (IMC), pressão arterial sistêmica (PA), frequência cardíaca (FC), circunferência abdominal (determinada na metade da distância entre o último arco costal e a crista ilíaca) além de pesquisa de sinais e sintomas de PND e neuropatias autonômicas (cardiovascular, gastrointestinal, genitourinária e metabólica).

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela altura ao quadrado (m^2); em indivíduos com idade igual ou maior que 18 anos. Conforme recomendação da OMS e de estudo brasileiro, considera-se sobrepeso indivíduos com IMC superior a 25 kg/m^2 e obesidade superior a 30 kg/m^2 ou de acordo com o limite superior de normalidade para a faixa etária.

Todos os pacientes foram submetidos à aferição da pressão arterial sistêmica (PA) com manguito adaptado para o diâmetro do braço. A PA foi determinada com o paciente em posição sentada após repouso de cinco minutos, em três verificações, utilizando-se o monitor OMRON® HEM 742INT (Omron Healthcare) que nos fornece a pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e frequência cardíaca. O indivíduo será considerado hipertenso quando a média das três aferições de PAS for maior ou igual a 140 mmHg e/ou de PAD maior ou igual a 90 mmHg, em tratamento anti-hipertensivo ou de acordo com o limite superior de normalidade para a faixa etária.

As variáveis laboratoriais determinadas foram: glicemia de jejum, hemoglobina glicada A1c (por HPLC; valores de referência: 4.0-6.0%), uréia, creatinina, colesterol total, HDL-c, LDL-c calculado pela equação de Friedwald, concentração urinária de albumina (mg/L), ácido úrico, proteína C reativa ultra sensível (PCR us), TSH, T4 livre, hemograma completo, velocidade de hemossedimentação e pesquisa de albuminúria.

Das variáveis clínicas levantadas, para o presente estudo, foram analisadas apenas os dados referentes a idade, sexo, etnia autodeclarada e idade ao diagnóstico visto que a correlação dos polimorfismos genéticos com as demais variáveis serão investigadas no futuro, com a conclusão do projeto.

2.4 Análises genéticas

2.4.1 Extração do DNA e preparo da amostra

Foi coletado aproximadamente 5 mL de sangue periférico de forma padronizada através de punção venosa em tubos estéreis com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). Foram utilizados Kits comerciais para extração do DNA, um automatizado (SP QIA Symphony) com o equipamento QIA Symphony SP e o outro manual (Qiagen QIAamp DNA Blood Mini) ambos da Qiagen (EUA). Os mesmos divergiam basicamente apenas no método adotado para a etapa de purificação, com o Kit automatizado esta etapa era realizada com o auxílio de partículas magnéticas enquanto no Kit manual a mesma era realizada por colunas de sílica.

As amostras de DNA extraídas foram avaliadas quanto à sua concentração e pureza por meio da densidade óptica em um espectrofotômetro Nanodrop-Thermo Fisher Scientific. A relação entre a quantidade de DNA e de proteínas na amostra é utilizada como parâmetro para avaliação da qualidade do DNA extraído, os valores desta relação foram considerados aceitáveis quando se encontravam entre 1,7 e 2,0. O cálculo utilizado para o ajuste da concentração foi o seguinte:

Concentração desejada X Volume desejado = Concentração inicial X Volume inicial.

O valor obtido a partir desta equação representa a quantidade de DNA que deve ser utilizado na diluição, este mesmo valor deve ser subtraído do volume desejado para obtermos o volume de água reagente para laboratório tipo I que deve ser adicionado no preparo da amostra.

2.5 Tipificação molecular HLA classe II

A Tipificação dos genes –DRB1, -DQA1 e –DQB1 foi realizada com o kit LABType SSO One Lambda (One Lambda, Inc. – CA – EUA) aliado à tecnologia Luminex. As

amostras foram submetidas à reação em cadeia de polimerase (PCR) utilizando primers locus-específicos biotinizados que permitem marcar posteriormente o produto amplificado com estreptavidina conjugada à R-ficoeritrina (SAPE).

Após o PCR, parte do produto amplificado (1,5µL) foi submetido à eletroforese em gel de agarose (2%) com o corante Syb® Safe (Life Technologies) para visualização das bandas amplificadas sob incidência de luz ultravioleta. Os fragmentos foram submetidos a uma voltagem de 150V por oito minutos e meio e fotografados para registro.

Com a confirmação da presença de material amplificado, os amplicons são submetidos à desnaturação e neutralização com tampões fornecidos pelo fabricante. É adicionado ao material desnaturado o tampão de hibridização que contém microesferas encobertas por sondas de oligonucleotídeos em sua superfície que se ligam ao DNA em suas regiões complementares, este processo é denominado hibridização. Após a hibridização são realizadas sucessivas etapas de lavagem, centrifugação e "flicagem" (movimento único e vigoroso de inversão da placa de PCR) para remoção de ligações inespecíficas da reação. É adicionada a mistura SAPE ao material e posteriormente há uma nova etapa de lavagem, o material é re-suspenso em 65µL de tampão e transferido para uma placa de leitura ELISA.

A placa é acoplada a plataforma de leitura LabScan 100 Luminex que detecta a fluorescência emitida pelas microesferas por citometria de fluxo. A interpretação é baseada no padrão de ligação do DNA com as microesferas e coloração obtida na reação por meio do software HLA Fusion 3.2 – One Lambda US.

2.6 Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIM)

Para inferência da ancestralidade genômica foi utilizado um painel de 46 marcadores autossômicos informativos de ancestralidade do tipo inserção/deleção (AIM-Indels), amplificado numa única PCR multiplex com o kit Qiagen Multiplex PCR (Qiagen), seguindo as instruções do Qiagen Multiplex PCR Handbook (disponível em V:/GERAL/Protocolos/Kitsoftwaremanuals). Na tabela 4 é mostrada a lista dos marcadores utilizados nesta reação multiplex, assim como, a descrição dos alelos e as localizações físicas. Esta metodologia utiliza iniciadores marcados por fluorescência de cores diferentes, os quais permitem a visualização dos fragmentos de DNA amplificados por PCR em equipamentos de eletroforese capilar. Esses marcadores apresentam diferença de frequências superiores a 40%

entre populações ancestrais, permitindo inferir eficientemente proporções de mistura global e individual em populações com origens continentais distintas (Pereira, et al. 2012).

Tabela 4 – AIM-Indels utilizados neste estudo, incluindo a localização dos marcadores no genoma e alelos relatados

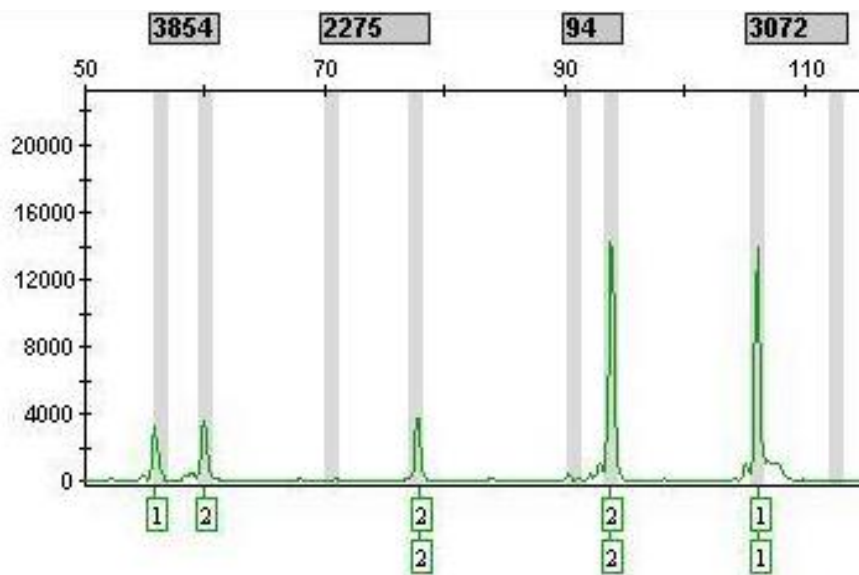
| Código rs | MID | Cromossomo | Posição(bp) | Alelos descritos no dbSNP |
|------------------|------------|-------------------|--------------------|----------------------------------|
| rs2307666 | MID-1470 | 11 | 64729920 | -/GTTAC |
| rs1610863 | MID-777 | 16 | 6551830 | -/GAA |
| rs16635 | MID-196 | 6 | 99789775 | -/CAT |
| rs1610965 | MID-881 | 5 | 79746093 | -/ACTT |
| rs35451359 | MID-3122 | 18 | 45110983 | -/ATCT |
| rs140837 | MID-548 | 6 | 3708909 | -/CT |
| rs1160893 | MID-659 | 2 | 224794577 | -/CT |
| rs2308203 | MID-2011 | 2 | 109401291 | -/CTAGA |
| rs33974167 | MID-2929 | 8 | 87813725 | -/TA |
| rs1160852 | MID-593 | 6 | 137345857 | -/TT |
| rs1610884 | MID-798 | 5 | 56122323 | -/GGGAAA |
| rs2067280 | MID-1193 | 5 | 89818959 | -/AT |
| rs2308067 | MID-1871 | 7 | 127291541 | -/TT |
| rs4183 | MID-17 | 3 | 3192524 | -/TAAC |
| rs3054057 | MID-2538 | 15 | 86010538 | -/AACA |
| rs2307840 | MID-1644 | 1 | 36099090 | -/GT |
| rs60612424 | MID-3854 | 6 | 84017514 | -/TCTA |
| rs3033053 | MID-2275 | 14 | 42554496 | -/TCAGCAG |
| rs16384 | MID-94 | 22 | 42045009 | -/AAC |
| rs34611875 | MID-3072 | 18 | 67623917 | -/GCCCCCA |
| rs1610859 | MID-772 | 5 | 128317275 | -/TAG |
| rs3045215 | MID-2313 | 1 | 234740917 | -/ATTATAACT |
| rs25621 | MID-397 | 6 | 139858158 | -/TTCT |
| rs2307832 | MID-1636 | 1 | 55590789 | -/AA |
| rs16343 | MID-51 | 4 | 17635560 | -/TTTAT |
| rs3031979 | MID-2431 | 8 | 73501951 | -/ATTG |
| rs34122827 | MID-2264 | 13 | 63778778 | -/AAGT |
| rs133052 | MID-2256 | 22 | 41042364 | -/CAT |
| rs6490 | MID-128 | 12 | 108127168 | -/ATT |
| rs4181 | MID-15 | 2 | 42577803 | -/AAATACACAC |
| rs3030826 | MID-2241 | 6 | 67176774 | -/GTCCAATA |
| rs140708 | MID-419 | 6 | 170720016 | -/AATGGCA |
| rs1611026 | MID-943 | 5 | 82545545 | -/TGAT |
| rs16438 | MID-159 | 20 | 25278470 | -/CCCCA |
| rs2308161 | MID-2005 | 10 | 69800909 | -/ACAAT |
| rs16687 | MID-250 | 7 | 83887882 | -/CA |
| rs2307998 | MID-1802 | 5 | 7814345 | -/GGA |
| rs2307803 | MID-1607 | 3 | 108981031 | -/TG |
| rs2307930 | MID-1734 | 6 | 84476378 | -/CCAT |
| rs25630 | MID-406 | 6 | 14734341 | -/AG |
| rs2307582 | MID-1386 | 1 | 247768775 | -/AAACTATTTCATTTTCACCT |
| rs2307922 | MID-1726 | 1 | 39896964 | -/CAAGAACTATAAT/CACTATCTATTAT |
| rs11267926 | MID-3626 | 15 | 45526069 | -/AATATAATTCTCCA |
| rs25584 | MID-360 | 12 | 112145217 | -/AA |
| rs2307799 | MID-1603 | 5 | 70828427 | -/TTGT |
| rs34541393 | MID-2719 | 20 | 30701405 | -/AACT |

Legenda- Código rs: Listagem dos marcadores de acordo com dbSNP -132; MID: Nomenclatura dos marcadores de acordo com o banco de dados Marshfield Diallelic Insertion/Deletion Polymorphisms.

A reação foi composta por 2,5 μL de tampão Master Mix 2x, 0,5 μL de Mix de primers, 1,5 μL de água reagente para laboratório tipo I e 1 μL de DNA com a concentração padronizada a 1 ng/ μL , contendo em seu volume final 5,5 μL . Do produto de PCR é retirado 1 μL e adicionado 8,8 μL de Formamida HI-DI e 0,2 μL do padrão de tamanho interno (STD - *size standard*) GeneScan™ 500 LIZ® ambos Applied Biosystems. A reação é desnaturada a 96°C por cinco minutos e resfriada a 4°C por mais cinco minutos, posteriormente.

A detecção dos polimorfismos nos fragmentos gerados foi feita por eletroforese capilar no sequenciador automático ABI 3500 (Applied Biosystems®). Os eletroferogramas gerados foram analisadas no software Gene Mapper V4.1(AppliedBiosystems®). Os alelos de INDELS são classificados como Alelo 1 (curtos) e Alelo 2 (longos) como podemos observar na figura 5.

Figura 5 – Eletroferograma da análise dos fragmentos representando os possíveis alelos em diferentes marcadores com exemplos de homozigose e heterozigose



2.7 Análises estatísticas

As estimativas de frequência alélica e haplotípica dos genes HLA-DQA1 –DQB1 e -DRB1, haplótipos de ancestralidade, desequilíbrio de ligação, equilíbrio de Hardy-Weinberg e índices moleculares foram realizados com o software Arlequin v 3.11 (Excoffier 2005). Para as comparações entre populações e diferenciação genética dentro dos grupos (F_{st}) foi utilizado o mesmo software.

A estimativa de ancestralidade foi calculada baseada nos os valores de razão de verossimilhança obtidos com um algoritmo de classificação Bayesiana realizadas no software Structure v2.3.3., com uma "burnin length" de 100,000 seguida de 100,000 repetições de Monte Carlo via Cadeias de Markov. Foram utilizados os parâmetros "Admixture Model", não considerando informações prévias sobre as amostras e "Allele Frequency Models" considerando os *loci* correlacionados ou independentes; O número de grupos presumidos presentes no conjunto de dados foi K=3, utilizando o painel de diversidade HGDP-CEPH (subconjunto H952) como referência para as populações ancestrais europeia, africana e ameríndia.

As análises de variância foram realizadas através de ANOVA considerando um fator e quando necessário (com a rejeição da hipótese nula $-H_0$) foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Tukey, que tem como estratégia definir a menor diferença significativa. Estas análises foram realizadas com o software Action.

Para elaboração do gráfico de análise do escalonamento multidimensional (MDS) das distâncias genéticas foi utilizado o software SPSS Statistics (IBM).

3 RESULTADOS

Primeiramente será apresentado o perfil ancestral dos 972 pacientes DM1 de acordo com os estados de origem das amostras. Quanto ao perfil genético dos 46 marcadores de ancestralidade, esta coorte será comparada com dados já publicados da população brasileira. Posteriormente, será realizada análise de frequência alélica e haplotípica dos genes HLA-DQA1, -DQB1 e DRB1 em 479 pacientes e por último serão feitas correlações quanto à etnia e idade ao diagnóstico. O número de participantes por centro, caracterizado pelo Estado em que reside está descrito na tabela 5.

Tabela 5 – Distribuição dos 972 participantes por estado de origem analisados por ancestralidade genômica e tipificação do HLA

| Análise Molecular | RJ | SP | RS | BA | DF | CE | PR | PA | Total |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| Ancestralidade Genética | 142 | 274 | 111 | 124 | 141 | 107 | 45 | 27 | 972 |
| Tipificação HLA | 42 | 200 | 86 | 107 | 44 | - | - | - | 479 |

3.1 Perfil epidemiológico

Do total de 972 participantes, 442 (45,47%) são homens e 530 (54,52%) mulheres. As médias de idade e idade ao diagnóstico (IDD), com respectivos d.p., estão descritas na tabela 6. Não houve diferença significativa entre a média de idade e idade ao diagnóstico em homens e mulheres.

Tabela 6 – Caracterização epidemiológica da população estudada

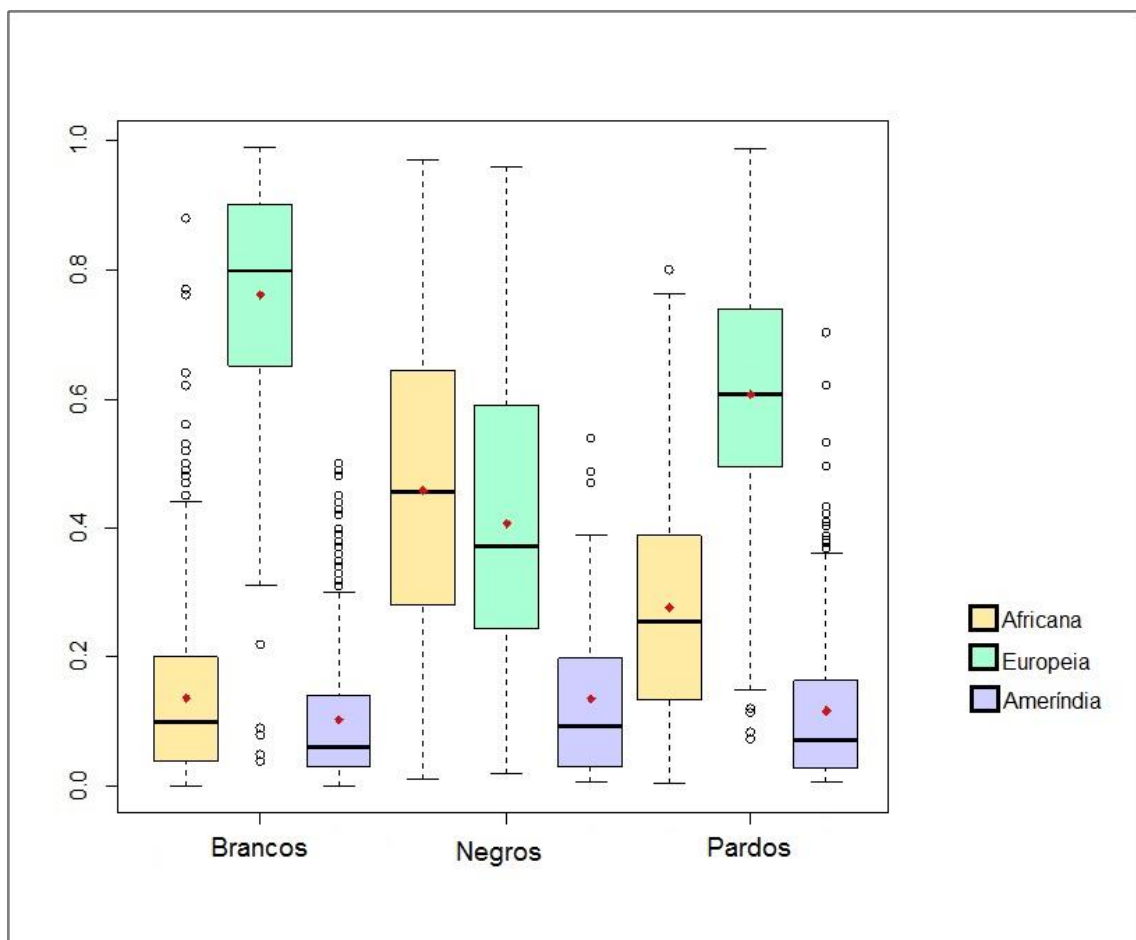
| | Homens | Mulheres | Teste estatístico | (p) |
|-----------------------|---------------|-----------------|--------------------------|------------|
| N 972 | 442 | 530 | | |
| Mínimo de idade | 11 | 13 | | |
| Média de idade ± d.p. | 29,2 ± 11,9 | 31,8 ± 12,0 | F=112,182 | Ns |
| Máximo de idade | 68 | 70 | | |
| Mínimo de IDD | 1 | 1 | | |
| Média de IDD ± d.p. | 14,4 ± 9,5 | 15,3 ± 9,5 | F = 2,0884 | Ns |
| Máximo de idade | 54 | 52 | | |

3.2 Caracterização do perfil ancestral da amostra e autodeclaração

A população DM1 apresentou em média 67,8% de ancestralidade genômica Europeia, 19,7% Africana e 11,2% Ameríndia. Quanto à etnia autodeclarada, 53,2% dos indivíduos se disseram brancos 8,7% negros, 36,8% pardos e 1,2% indígenas.

No Gráfico 1 podemos observar, de acordo com a autodeclaração étnica, a proporção da ancestralidade genômica inferida. O grupo de indivíduos autodeclarados indígenas não foi incluído nesta análise por não ser considerado representativo (n=12), mas apresentou em média 8% de ancestralidade genômica ameríndia, 78% europeia e 13% africana. Houve diferenças significativas entre as médias de ancestralidade genômica, verificadas na análise de variância (ANOVA) ($F= 993.8092$; $p=5,0 \times 10^{-5}$).

Gráfico 1 – Box plot com a distribuição dos percentuais de ancestralidade genômica quanto à autodeclaração



Com o teste de comparações múltiplas de Tukey foi possível observar diferenças entre as médias de pares específicos (tabela 7). Não foi possível observar diferenças significativas entre as médias de ancestralidade genômica entre os grupos: Pardos x Brancos e Pardos x Negros quanto à ancestralidade ameríndia. Todos os demais grupos obtiveram diferenças significativas ($p < 0,00000$) entre médias de ancestralidade genômica.

Tabela 7 – Comparação entre as médias de ancestralidade genômica nos grupos étnicos autodeclarados

| Níveis | Centro | Limite Inferior | Limite Superior | P-valor |
|---------------|---------------|------------------------|------------------------|----------------|
| Af_N x Af_B | 0,32024 | 0,27607 | 0,36440 | <0,00000 |
| Af_P x Af_B | 0,13888 | 0,11293 | 0,16482 | <0,00000 |
| Af_P x Af_N | -0,18136 | -0,22689 | -0,13583 | <0,00000 |
| Eu_P x Eu_B | -0,15377 | -0,18356 | -0,12398 | <0,00000 |
| Eu_P x Eu_N | 0,20003 | 0,14775 | 0,25231 | <0,00000 |
| Eu_N x Eu_B | -0,35380 | -0,40451 | -0,30309 | <0,00000 |
| Am_N x Am_B | 0,03217 | 0,00172 | 0,06261 | 0,035472 |
| Am_P x Am_B | 0,01361 | -0,00427 | 0,03150 | 0,174665 |
| Am_P x Am_N | -0,01856 | -0,04994 | 0,01283 | 0,347685 |

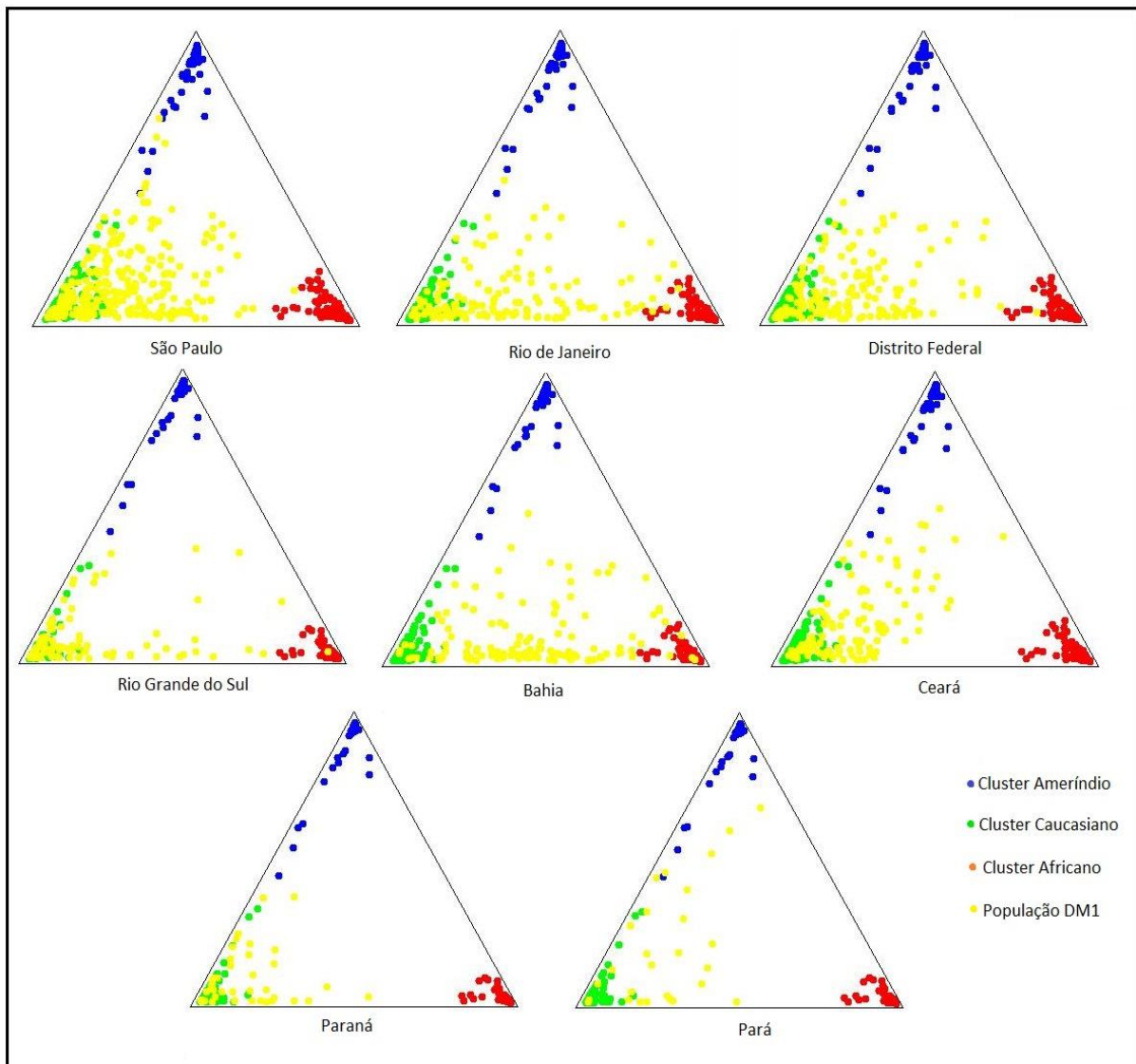
Legenda: AF= Ancestralidade genômica Africana; Eu= Ancestralidade genômica Europeia; Am= Ancestralidade genômica ameríndia; N= Grupo autodeclarado Negro; B= Grupo auto declarado Branco; P= Grupo auto declarado Pardo. Centro= Diferença entre as médias; Limites= Intervalo de confiança)

O percentual de ancestralidade genômica individual e global das amostras deste estudo foi inferido por Estado a fim de permitir a visualização de diferenças regionais. As estimativas de proporção de ancestralidade genética global podem ser visualizadas na tabela 8. Os resultados da estimativa individual estão disponíveis no Anexo C. A representação gráfica da análise individual frente as população de referência do painel de diversidade HGDP-CEPH está representada na figura 6. Todos os Estados participantes apresentam ancestralidade predominante europeia, em torno de 63-68%, com exceção do estado da Bahia, que obteve um percentual de ancestralidade europeia um pouco inferior (51%) e Rio Grande do sul e Paraná, que obtiveram percentuais mais elevados (81%).

Tabela 8 – Estimativa de ancestralidade genômica global por Estado participante

| Região | Estado | Origem Ancestral | Ancestralidade Genômica - AIM (%) | |
|---------------------|------------------|-------------------------|--|------|
| Norte | Pará | EUR | 0,64 | |
| | | AFR | 0,15 | |
| | | AM | 0,2 | |
| Nordeste | Bahia | EUR | 0,51 | |
| | | AFR | 0,4 | |
| | | AM | 0,08 | |
| | Ceará | EUR | 0,69 | |
| | | AFR | 0,16 | |
| | | AM | 0,14 | |
| Centro-oeste | Distrito Federal | EUR | 0,66 | |
| | | AFR | 0,21 | |
| | | AM | 0,11 | |
| Sudeste | Rio de Janeiro | EUR | 0,63 | |
| | | AFR | 0,27 | |
| | | AM | 0,09 | |
| | São Paulo | EUR | 0,68 | |
| | | AFR | 0,18 | |
| | | AM | 0,13 | |
| | Sul | Rio Grande do Sul | EUR | 0,81 |
| | | | AFR | 0,12 |
| | | | AM | 0,06 |
| Paraná | | EUR | 0,81 | |
| | | AFR | 0,09 | |
| | | AM | 0,09 | |

Figura 6 – *Triangle plot* da representação visual da proporção de ancestralidade genética individual



Legenda: Cada indivíduo é representado no gráfico por um ponto e a proporção de mistura é equivalente à distância dos pontos nos vértices do triângulo, onde estão localizadas as populações ancestrais de referência do painel CEHP (K=3; europeu, africano ou ameríndio).

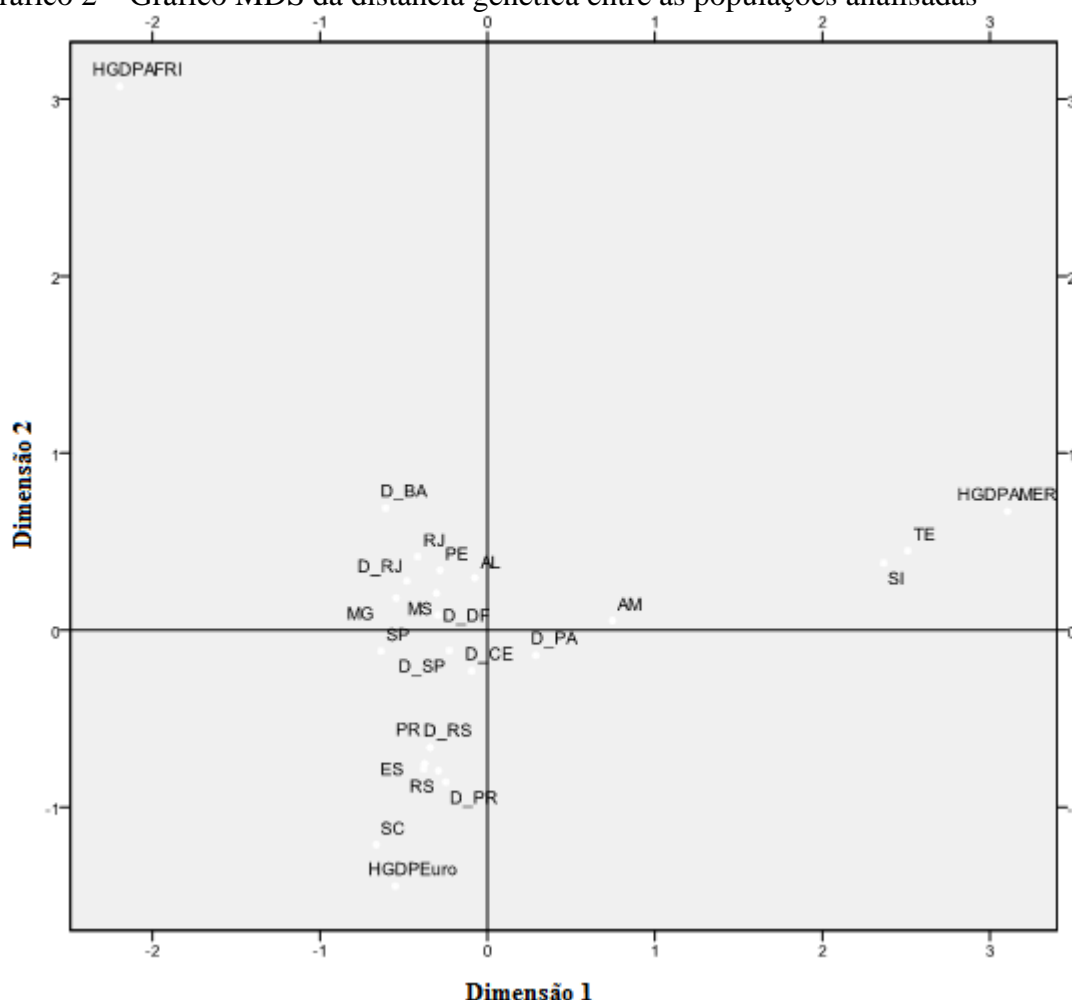
Os dados obtidos a partir dos 46 AIM-Indels analisados na população DM1 foram comparados com dados já publicados de um estudo multicêntrico, realizado com 798 indivíduos saudáveis de diferentes regiões do Brasil, em que foram utilizados os mesmos marcadores (Saloum de Neves Manta, Pereira et al. 2013). As populações ancestrais de referência Africanas, Ameríndias e Europeias do painel CEHP também foram incluídas na análise. Algumas diferenças regionais já foram relatadas por Manta et al [56], e não serão discutidas neste trabalho. Após a correção de Bonferroni para testes múltiplos o valor de P foi

considerado significativo quando $\leq 0,000045$, em um nível de significância de 0,05. A matriz de distância genética, com valores de P e Fst, pode ser visualizada no anexo D.

Na análise de distância genética pareada, os pacientes DM1 dos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul foram considerados próximos geneticamente das populações saudáveis destes respectivos Estados, sem valores de Fst significativos.

Os Estados da Bahia, Ceará, Pará e do Distrito Federal não dispunham de informação genética dos 46 marcadores em populações saudáveis para que pudessem ser comparados com os dados obtidos dos pacientes deste estudo. A análise do escalonamento multidimensional (MDS) das distâncias genéticas está representada no gráfico 2.

Gráfico 2 – Gráfico MDS da distância genética entre as populações analisadas



Legenda: (Siglas: AM_SI- Amazonas, Santa Isabel do Rio Negro; AM: Manaus; PE: Pernambuco; AL: Alagoas; MS: Mato Grosso do Sul; AM_TE: Terena; MG: Minas Gerais; ES: Espírito Santo; RJ: Rio de Janeiro; SP: São Paulo; PR: Paraná; SC: Santa Catarina; RS: Rio Grande do Sul; D_RJ: DM1 Rio de Janeiro; D_SP: DM1 São Paulo; D_RS: DM1 Rio Grande do Sul; D_DF: DM1 Distrito Federal; D_CE: DM1 Ceará; D_BA: DM1 Bahia; D_PA: DM1 Pará; D_PR: DM1 Paraná; HGDPAFRI: população de referência Africana; HGDPAME: população de referência Ameríndia; HGDPEURO: população de referência Europeia).

A população DM1 da Bahia mostrou diferenças significativas nos valores de F_{st} entre todas as 24 populações analisadas, incluindo as populações de referência. A mesma ainda mostrou-se mais próxima geneticamente da população ancestral Europeia (0.08618) do que Africana (0.14105). O Ceará (DM1) foi o Estado da região nordeste do país que apresentou maior proximidade genética da população ancestral europeia (0.02665), enquanto Pernambuco e Alagoas (da população saudável) obtiveram respectivamente 0.04762 e 0.04950 (dados da Bahia já citados). O Ceará obteve proximidade também das seguintes populações: Paraná (Saudável e DM1), Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, São Paulo (Saudável e DM1), Santa Catarina, Rio Grande do Sul (Saudável e DM1) e DM1 do Pará e Distrito Federal.

O Estado do Pará esteve próximo geneticamente da população Europeia (0.05557) e Ameríndia (0.18842) do painel CEHP e também dos seguintes estados: Amazonas, Pernambuco, Alagoas, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

3.3 Tipificação molecular dos genes HLA-DQA1, DQB1 e DRB1

Dos 972 indivíduos em que foi realizada análise molecular de ancestralidade, 479 foram genotipados para os *loci* HLA-DQA1, -DQB1 e -DRB1. A população estudada encontra-se em desequilíbrio de ligação (*Pairwise Linkage Disequilibrium* - PLD) entre os três *loci* analisados ($p < 0,000001$). O teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) mostrou significativo desequilíbrio de ligação entre todos os *loci* e também foi possível observar maior heterozigosidade do que o esperado (tabela 9).

Tabela 9 – Diversidade genética dos genes HLA tipificados

| Índice de diversidade Molecular | | | | | | |
|---------------------------------|----------------------|--------------|----------------------------|---------------------------|------------------|---------|
| Locus | Nº de cópias do gene | Nº de alelos | Heterozigosidade observada | Heterozigosidade esperada | EHW - Valor de p | d.p. |
| DQA1 | 958 | 15 | 0.94572 | 0.87429 | 0.00000 | 0.00000 |
| DQB1 | 958 | 25 | 0.81837 | 0.80751 | 0.00000 | 0.00000 |
| DRB1 | 958 | 55 | 0.89770 | 0.88964 | 0.00000 | 0.00000 |
| Média | 958.000 | 31.667 | 0.88727 | 0.85715 | - | - |
| d.p. | 0.000 | 20.817 | 0.06431 | 0.04366 | - | - |

| Pairwise Linkage Disequilibrium (PLD) | |
|---------------------------------------|------------|
| Pares de loci | Valor de p |
| Par DQA1;DQB1 | P= 0.00000 |
| Par DQA1; DRB1 | P= 0.00000 |
| Par DQB1;DRB1 | P= 0.00000 |

As frequências alélicas e haplotípicas podem ser observadas no **apêndice**. No total foram observados 154 haplótipos. Todos os haplótipos encontrados nos 479 pacientes foram classificados quanto à origem étnica e efeito relacionado ao DM1 de acordo com a literatura ou com a base de dados *Allele Frequency* (www.allelefrequency.net) que disponibiliza dados mundiais de frequência alélica e haplotípica de loci polimórficos. Na tabela 10 temos os 10 haplótipos mais frequentes na população estudada com o respectivo efeito no DM1 e origem étnica descrita. Dos 958 haplótipos dos pacientes DM1 66,3% são de suscetibilidade, 28,3% de proteção, 5% de efeito desconhecido e 0,4% são considerados neutros. O número de haplótipos classificados quanto à origem étnica e estratificada pelo efeito relatado na respectiva etnia pode ser observado na tabela 11. Em todos os grupos étnicos foi possível observar a predominância de haplótipos relacionados à suscetibilidade ao DM1, mas em caucasianos 41,7% dos haplótipos presentes são considerados protetores. Dos haplótipos não relatados em nenhum grupo étnico (NR) 81% (n=38) não puderam ter nenhum tipo de efeito relacionado, aqueles que tiveram, foram classificados por possuírem os alelos altamente relacionados á suscetibilidade DQA1*03:01/DQB1*03:02 e não apresentarem nenhum alelo de proteção no loci DRB1. Um haplótipo NR foi classificado como protetor pois tal efeito foi descrito em africanos considerando apenas os loci DRB1 e DQB1 em alta resolução.

Tabela 10 – Haplótipos mais frequentes, com origem étnica e efeito relatado no DM1

| DRB1 | DQA1 | DQB1 | Banco de Dados | Literatura | Efeito | Referência |
|------|-------------------|------|------------------|-------------|--------|---------------------|
| 0301 | 0501 | 0201 | Cau | Cau | S | Noble,2012 |
| | | | Cau -EUA e Norte | | | Noble,2012/Howson, |
| 0701 | 0201 | 0202 | da África | Cau/Afr | P/N | 2013 |
| 0405 | 0301 ¹ | 0302 | Cau -Itália | Cau | S | Noble, 2012 |
| 0405 | 0302 ² | 0302 | Cau -EUA | Cau | S | Thomson, 2007 |
| 0402 | 0301 | 0302 | Cau -Itália | Cau | S | Noble, 2012 |
| 0401 | 0301 | 0302 | Cau -Inglaterra | Cau | S | Noble, 2012 |
| | | | | Cau/ | | Noble, 2012/Thomson |
| 0101 | 0101 ³ | 0501 | Cau | Cau;Afr;Asi | P/S | 2007 |
| 1302 | 0102 | 0604 | Afr | Afr | S | Noble, 2013 |
| 0901 | 0302 ⁴ | 0202 | Afr | Afr | S | Black, 2013 |
| 0102 | 0101 ³ | 0501 | Afr /Cau | Cau | P | Erlich, 2008 |

Nota: Ambiguidades não esclarecidas: ¹0301/0302/0303; ²0302/0303; ³0101/0104/0105; ⁴0302/0505/0509.

Tabela 11 – Classificação étnica dos haplótipos estratificado pelo efeito

| Etnia | Desconhecido | Proteção | Suscetibilidade | Total |
|----------------|--------------|-------------|-----------------|----------|
| | N | N | N | N (100%) |
| Africano | 14 (8,3%) | 51 (30,4%) | 103 (61,3%) | 168 |
| Ameríndio | 1 (4%) | 2 (8,0%) | 22 (88%) | 25 |
| Caucasiano | 5 (1,1%) | 195 (41,7%) | 268 (57,3%) | 468 |
| Etnia Variável | 1 (0,4%) | 22 (8,6%) | 234 (91,1%) | 257 |
| Não Relatado | 31 (77,5%) | 1 (2,5%) | 8 (20%) | 40 |
| TOTAL | 52 (5,4%) | 271 (28,3%) | 635 (66,3%) | 958 |

A origem étnica do haplótipo e o efeito relacionado ao DM1 foram testados quanto à variável idade ao diagnóstico por ANOVA. A etnia atribuída aos haplótipos nesta análise não obteve resultados significativos (teste $F=1,19709$; $p=0,30799$). Ao analisar a etnia dos haplótipos de cada indivíduo (considerando a origem étnica dos dois haplótipos simultaneamente) foi possível observar diferenças estatisticamente significativas na idade ao diagnóstico ($p=0,00000$) (tabela 12). A presença de dois haplótipos de origem Caucasiana parece retardar em média 5 anos o surgimento do DM1 (17 anos) quando comparado aos indivíduos portadores de dois haplótipos de origem africana (11 anos). Isso pode ser relacionado à maior frequência de haplótipos protetores de origem caucasiana na amostra.

Tabela 12 – Análise da etnia ligada aos haplótipos herdados pelos 479 indivíduos

| Etnia dos haplótipos | N | Média | Variança | d.p. |
|-----------------------------|----------|--------------|-----------------|-------------|
| Afr_Afr | 11 | 11,6 | 418,545 | 64,695 |
| Afr_Asi | 1 | 17 | - | - |
| Afr_Cau | 73 | 15,5 | 880,586 | 9,384 |
| Afr_Ev | 60 | 15,8 | 903,661 | 95,061 |
| Afr_Nr | 5 | 16,4 | 124,3 | 11,149 |
| Am_Afr | 2 | 7 | 2 | 14,142 |
| Am_Cau | 16 | 15 | 729,333 | 85,401 |
| Am_Nr | 2 | 14,5 | 312,5 | 176,777 |
| Cau_Afr | 3 | 21,3 | 2,263,333 | 150,444 |
| Cau_Asi | 1 | 11 | - | - |
| Cau_Cau | 96 | 17,4 | 1,056,815 | 102,801 |
| Cau_Ev | 63 | 16,8 | 982,632 | 99,128 |
| Cau_Nr | 5 | 11,6 | 126,8 | 112,606 |
| Ev_Afr | 2 | 8 | 50 | 70,711 |
| Ev_Am | 3 | 13 | 7 | 26,458 |
| Ev_Cau | 105 | 16 | 1,134,511 | 106,513 |
| Ev_Ev | 7 | 17 | 1,296,667 | 113,871 |
| Ev_Nr | 8 | 11,8 | 870,714 | 93,312 |
| Nr_Am | 2 | 7 | 32 | 56,569 |
| Nr_Cau | 9 | 19,7 | 203 | 142,478 |
| Nr_Ev | 2 | 19 | 32 | 56,569 |
| Nr_Nr | 3 | 9 | 3 | 17,321 |

Nota: Ev- Haplótipo com etnia variável; NR- Haplótipo com etnia não relatada.

O efeito relacionado ao haplótipo no DM1 também implicou em diferenças significativas na IDD (tabela 13).

Tabela 13 – Influência do efeito atribuído ao genótipo na idade ao diagnóstico

| Efeito | Média de IDD | Variância | d.p | Teste F | p |
|------------------------|---------------------|------------------|------------|----------------|----------|
| Neutro | 17,75 | 180,917 | 13,451 | | |
| Desconhecido | 14,7 | 100,794 | 10,040 | 579,747 | 0,00063 |
| Proteção | 18 | 101,190 | 10,059 | | |
| Suscetibilidade | 15 | 96,220 | 9,807 | | |

Nota: IDD= Idade ao diagnóstico.

Considerando o efeito dos dois haplótipos HLA (cada um presente em um cromossomo) também foi possível observar diferenças significativas na IDD (tabela 14). Nas duas análises é possível observar que haplótipos de efeito desconhecido apresentam uma média de IDD próxima àqueles relacionados à suscetibilidade.

Tabela 14 – Influência do efeito atribuído aos haplótipos individuais na idade ao diagnóstico

| Efeito (Hapl1-Hapl2) | N | Média IDD | Variância | d.p. | Teste F | P |
|-----------------------------|----------|------------------|------------------|-------------|----------------|----------|
| D-D | 4 | 9,3 | 34,9167 | 5,909 | | |
| P-D | 13 | 20,7 | 103,5641 | 10,1766 | | |
| P-N | 2 | 22,5 | 420,5 | 20,5061 | | |
| P-P | 44 | 19,8 | 93,5153 | 9,6703 | 2,80408 | 0,00721 |
| S-D | 25 | 13,3 | 97,1433 | 9,8561 | | |
| S-N | 2 | 13,0 | 32 | 5,6569 | | |
| S-P | 171 | 16,8 | 101,365 | 10,068 | | |
| S-S | 218 | 14,6 | 93,824 | 9,6863 | | |

Nota: D-D: Desconhecido-Desconhecido; P-D: Proteção-Desconhecido; P-N: Proteção-Neutro; P-P: Proteção-Proteção; S-D: Suscetibilidade-Desconhecido; S-N: Suscetibilidade-Neutro; S-P: Suscetibilidade-Proteção; S-S: Suscetibilidade-Suscetibilidade.

3.4 Análise das frequências HLA por ancestralidade genômica

A análise de frequência de alelos e haplótipos HLA de acordo com a ancestralidade genética foi realizada através da categorização dos percentuais de ancestralidade inferidos, transformando-os em haplótipos numéricos. A categorização dos haplótipos de ancestralidade ocorreu da seguinte forma: quando o percentual de ancestralidade de determinada etnia (Ameríndio, Europeu, Africano) foi de 0,0 até 0,20 foi denominado Alelo 01; de 0,21-0,40: Alelo 02; de 0,41- 0,60: alelo 03; 0,61-0,80: Alelo 04; de 0,81-1,00: Alelo 05. Desta forma a análise englobaria um possível efeito de ancestralidade residual, considerando o nível de miscigenação entre três etnias inferidas. No total foi possível observar 19 diferentes haplótipos de ancestralidade e suas frequências estão relatadas na tabela 15.

Foram considerados 7 grupos étnicos de acordo com os haplótipos de ancestralidade genômica. Os grupos Caucasiano (n=298), Africano (n=34) e Ameríndio (n=3) continham os indivíduos que receberam para a respectiva ancestralidade genômica os alelos 04 ou 05. O indivíduos incluídos no grupo Miscigenado (n=66) foram aqueles que receberam o alelo 2 para os três tipos de origem ancestral ou receberam o alelo 3 para mais de uma ancestralidade. Aqueles que apresentaram um grau de miscigenação que não permitiram a sua inclusão em determinado grupo étnico de acordo com a ancestralidade por apresentarem desequilíbrio nas proporções de mistura foram incluídos em subgrupos de miscigenados, considerando a etnia

de contribuição majoritária (Miscigenado/Caucasiano - n=55; Miscigenado/Africano - n=22; Miscigenado/Ameríndio - n=1). Os grupos Ameríndio e Miscigenado/Ameríndio não foram incluídos nas análises por não serem representativos estatisticamente.

Tabela 15 – Frequência dos haplótipos de ancestralidade genética

| Grupos Étnicos | Haplótipo (AM-EU-AF) | N | Frequência | % |
|-----------------------|---------------------------------|----------|-------------------|----------|
| CAUCASIANO | 01-05-01 | 154 | 0,32150 | 32,2 |
| CAUCASIANO | 01-04-02 | 74 | 0,15449 | 15,4 |
| MISCIGENADO | 01-03-03 | 49 | 0,10230 | 10,2 |
| CAUCASIANO | 01-04-01 | 43 | 0,08977 | 9,0 |
| CAUCASIANO | 02-04-01 | 27 | 0,05637 | 5,6 |
| MIS/CAU | 01-03-02 | 25 | 0,05219 | 5,2 |
| AFRICANO | 01-02-04 | 19 | 0,03967 | 4,0 |
| MIS/CAU | 02-03-01 | 19 | 0,03967 | 4,0 |
| MISCIGENADO | 02-02-02 | 12 | 0,02505 | 2,5 |
| MIS/AFR | 01-02-03 | 11 | 0,02296 | 2,3 |
| MIS/CAU | 02-03-02 | 11 | 0,02296 | 2,3 |
| MIS/AFR | 02-02-03 | 7 | 0,01461 | 1,5 |
| AFRICANO | 01-01-04 | 6 | 0,01253 | 1,3 |
| AFRICANO | 01-01-05 | 5 | 0,01044 | 1,0 |
| MISCIGENADO | 03-03-01 | 5 | 0,01044 | 1,0 |
| MIS/AFR | 02-01-03 | 4 | 0,00835 | 0,8 |
| AFRICANO | 02-01-04 | 4 | 0,00835 | 0,8 |
| AMERÍNDIO | 04-02-01 | 3 | 0,00626 | 0,6 |
| MIS/AM | 03-02-01 | 1 | 0,00209 | 0,2 |

A distribuição dos haplótipos HLA estratificados pelo efeito relacionado e ancestralidade genômica podem ser visualizados na tabela 16. Do total de haplótipos observados, 66,1% eram de suscetibilidade, 28,7% de proteção e 4,5% de efeito desconhecido. O maior percentual de haplótipos de efeito desconhecido foi observado no grupo miscigenado/africano. O grupo étnico Africano foi o que obteve menor frequência de haplótipos de suscetibilidade (58,8%) e a maior de haplótipos protetores (35,2%).

Tabela 16 – Distribuição dos haplótipos de acordo com etnia definida por AIM, estratificado pelo efeito

| AIM | Desconhecido | Proteção | Suscetibilidade | Total |
|---------|--------------|------------|-----------------|----------|
| | n (%) | n (%) | n (%) | n (100%) |
| Afr | 4 (5,8%) | 24 (35,2%) | 40 (58,8%) | 68 |
| | | 162 | | |
| Cau | 24 (4,0%) | (27,6%) | 410 (68,7%) | 596 |
| Mis | 6 (4,5) | 45 (34,0%) | 81 (61,3%) | 132 |
| Mis/Afr | 6 (13,6%) | 10 (22,7%) | 28 (63,6%) | 44 |
| Mis/Cau | 9 (8,1%) | 32 (29,0%) | 69 (62,7%) | 110 |
| | | 275 | | |
| TOTAL | 50 (4,5%) | (28,7%) | 633 (66,1%) | 950 |

Ao analisar a distribuição dos dois haplótipos parentais dentro dos grupos definidos por ancestralidade genômica (tabela 17) foi possível visualizar que os indivíduos portadores de dois haplótipos de proteção eram em sua maioria africanos (20%) ou mis/afr (14,89%).

Tabela 17 – Distribuição dos dois haplótipos quanto ao efeito nos grupos étnicos definidos por AIM

| AIM | Efeito | | | | | | | | n |
|---------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-----|
| | D-D | P-D | P-N | P-P | S-D | S-N | S-P | S-S | |
| Afr | 0 | 10.00% | 0 | 20.00% | 0 | 0 | 45.00% | 25.00% | 20 |
| Am | 0 | 0 | 0 | 0 | 33.33% | 0 | 33.33% | 33.33% | 3 |
| Cau | 0.97% | 0.97% | 0 | 7.25% | 4.83% | 0.48% | 39.61% | 45.89% | 207 |
| Mis | 1.82% | 5.45% | 1.82% | 5.45% | 5.45% | 1.82% | 34.55% | 43.64% | 55 |
| Mis/Afr | 0 | 4.26% | 2.13% | 14.89% | 10.64% | 0 | 31.91% | 36.17% | 47 |
| Mis/Am | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.00% | 0 | 25.00% | 50.00% | 4 |
| Mis/Cau | 0.7% | 2.8% | 0 | 10.49% | 3.50% | 0 | 30.77% | 51.75% | 143 |
| TOTAL | 0.84% | 2.71% | 0.42% | 9.19% | 5.22% | 0.42% | 35.70% | 45.51% | 479 |

Foi verificada a distribuição dos haplótipos heterozigotos DR3/DR4 de acordo com a classificação étnica (tabela 16). Foram observadas diferenças no efeito deste genótipo de acordo com a etnia na média de idade ao diagnóstico ($p=0,00012$). Africanos apresentaram a menor IDD e caucasianos a maior, com exceção do grupo miscigenado/africano que teve em média 18,7 anos de IDD. Não houve a ocorrência deste genótipo nos grupos ameríndio e miscigenado/ameríndio.

Tabela 18 – Ocorrência do genótipo heterozigoto DR3/DR4 nos diferentes grupos étnicos

| Etnia | N DR3/DR4 | Média IDD | p | % Sobre N total |
|----------------|------------|-----------|---------|-----------------|
| Cau | 49 (46,2%) | 14,6 | | 298(16,4%) |
| Afr | 3 (2,8%) | 13 | | 34 (8,8%) |
| Mis | 10 (9,4%) | 14 | 0,00012 | 66 (15,2%) |
| Mis/Afr | 8 (7,5%) | 18,7 | | 22 (36,4%) |
| Mis/Cau | 36 (34%) | 13,8 | | 55 (65,4%) |
| Total | 106 (100%) | 14,8±2,25 | | 475 (22,1%) |

Na análise de classificação étnica por ancestralidade genômica não foi possível observar diferenças entre as médias de idade ao diagnóstico tanto nos grupos pré-estabelecidos ($P = 0,90886$) quanto nos haplótipos numéricos de ancestralidade ($P = 0,68154$). A análise de comparação da frequência haplotípica entre os grupos ancestrais definidos geneticamente não apresentou diferenças significativas (dados não mostrados). Os índices de diversidade molecular dos grupos, gerados pelo *software* Arlequin, podem ser observados na tabela 17. A heterozigosidade observada só não foi maior que o esperado no grupo Miscigenado no *loci* DRB1 e no grupo Miscigenado/Africano nos três *loci* (-DRB1-DQA1-DQB1) analisados. No gráfico 3 observa-se em percentual a diversidade de alelos nos 3 *loci* de acordo com o grupo étnico. O grupo Caucasiano possui visivelmente menor diversidade de alelos, enquanto os grupos Africano e Miscigenado/Africano apresentam maior diversidade alélica.

Gráfico 3 – Percentual de diversidade alélica dos loci HLA nos grupos étnicos

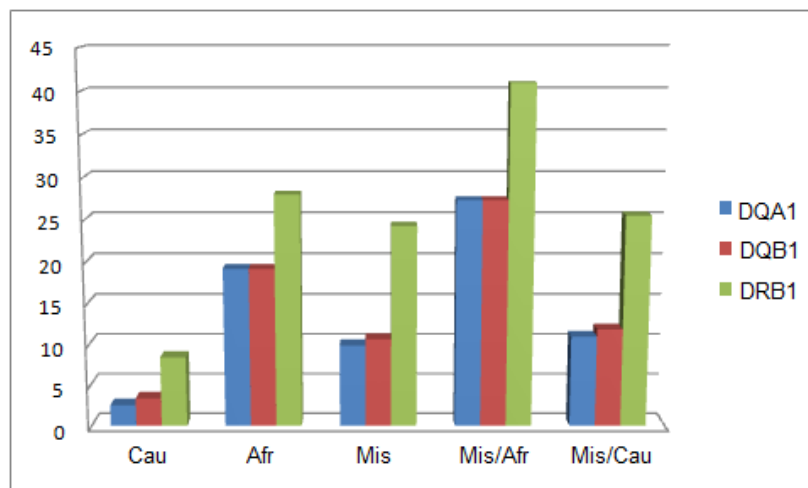


Tabela 19 – Índices de diversidade molecular de acordo com ancestralidade genética

| Índices de Diversidade Molecular | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-----|----|-----|----|-----|---------|---------|--|---------|--|-------|------|
| | CAU | | AFR | | MIS | | MIS/AFR | | MIS/CAU | | Média | d.p. |
| Nº de cópias | 596 | 68 | 132 | 44 | 110 | 190.000 | 229.565 | | | | | |
| Nº de loci | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3.000 | 0.000 | | | | | |

| Heterozigosidade | | | | | | | | | | |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>Loci</i> | CAU | | AFR | | MIS | | MIS_AFR | | MIS_CAU | |
| | <i>Het. Obs.</i> | <i>Het. Esp.</i> | <i>Het. Obs.</i> | <i>Het. Esp.</i> | <i>Het. Obs.</i> | <i>Het. Esp.</i> | <i>Het. Obs.</i> | <i>Het. Esp.</i> | <i>Het. Obs.</i> | <i>Het. Esp.</i> |
| DQA1 | 0.96309 | 0.86858 | 0.97059 | 0.88191 | 0.95455 | 0.88723 | 0.77273 | 0.89535 | 0.89091 | 0.87807 |
| DQB1 | 0.80872 | 0.78905 | 0.85294 | 0.84284 | 0.83333 | 0.83634 | 0.77273 | 0.87421 | 0.83636 | 0.80701 |
| DRB1 | 0.89597 | 0.88421 | 0.94118 | 0.89201 | 0.87879 | 0.89706 | 0.86364 | 0.91121 | 0.90909 | 0.89575 |
| Média | 0.88926 | 0.84728 | 0.92157 | 0.87226 | 0.88889 | 0.87354 | 0.80303 | 0.89359 | 0.87879 | 0.86027 |
| d.p. | 0.07740 | 0.05103 | 0.06123 | 0.02597 | 0.06123 | 0.03259 | 0.05249 | 0.01856 | 0.03785 | 0.04697 |

| Número de alelos observados | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|--|
| <i>Loci</i> | CAU | AFR | MIS | MIS/AFR | MIS/CAU | Média | d.p. | Total | |
| DQA1 | 15 | 13 | 13 | 12 | 12 | 13.000 | 1.225 | 15 | |
| DQB1 | 20 | 13 | 14 | 12 | 13 | 14.400 | 3.209 | 23 | |
| DRB1 | 50 | 19 | 32 | 18 | 28 | 29.400 | 12.954 | 55 | |
| Média | 28.333 | 15.000 | 19.667 | 14.000 | 17.667 | 18.933 | 5.708 | 31.000 | |
| d.p. | 18.930 | 3.464 | 10.693 | 3.464 | 8.963 | 9.103 | 6.378 | 21.166 | |

Nota:CAU= Caucasiano; AFR= Africano; MIS= Miscigenado.

4 DISCUSSÃO

A classificação racial pode ser realizada de três formas: autoatribuição, onde o próprio sujeito escolhe o grupo do qual se considera; Heteroatribuição, onde outra pessoa define o grupo do sujeito; Análises genéticas, onde há identificação de grandes grupos populacionais dos quais provieram os ascendentes próximos. Não há como garantir congruência entre as classificações dos sujeitos obtidas mediante a aplicação desses métodos. A autoatribuição ou heteroatribuição são influenciadas por fatores culturais, históricos, ambientais e diferenças fenotípicas que ficam a critério de percepções individuais. Por sua vez, a ancestralidade genética pode não refletir a aparência física dos indivíduos, pois o grupo de marcadores responsáveis por determinar características como cor da pele, olhos, tipo de cabelo, dentre outras características comumente relacionadas à etnia é limitado.

Durso, et al. (2014), buscou associar polimorfismos já bem relacionados à pigmentação da pele com a ancestralidade genômica e a autodeclaração em uma população do Rio de Janeiro e São Paulo. Tanto os marcadores de pigmentação quanto os de ancestralidade mostraram-se incapazes de prever a autoatribuição de cor dos indivíduos. Uma vez que os genótipos relacionados à pigmentação foram estatisticamente independentes das estimativas de ascendência. Usando a Análise de Componentes Principais (PCA) procurou-se verificar se os índices de pigmentação somados à ascendência genética africana e ameríndia poderiam prever a autoatribuição de cor. Mais uma vez, foi observada grande variação na classificação dos indivíduos, principalmente na categoria parda. Esta categoria é escolhida por até 42% dos brasileiros e tem a complicação adicional de se distinguir em pelo menos mais três categorias. Primeiramente, um grupo com fenótipo percebido como de origem Africana; em segundo lugar, um grupo que pode ser identificado como predominantemente de ascendência Ameríndia e em terceiro lugar, um grupo que expressa adesão a uma condição histórico-geográfica específica e não constitui efetivamente uma identificação étnica adequada no sentido da aparência física (Durso, et al., 2014).

Pesquisadores e profissionais de saúde por muito tempo encararam a etnia apenas como uma construção social ou cultural, sendo muitas vezes ignorada e não a considerando como uma condição biológica que compreende padrões moleculares únicos. É possível observar diferenças epidemiológicas no estado de saúde entre grupos raciais em países miscigenados como Brasil e Estados Unidos. Estas diferenças são provavelmente oriundas de combinações entre fatores genéticos, ambientais e particularmente, nível socioeconômico. A

fim de se evitar discriminações este tema permaneceu pouco explorado e ainda é tratado como um tabu.

O avanço em torno de conhecimentos moleculares e a disponibilização de novas tecnologias facilitou o desenvolvimento de pesquisas genéticas, permitindo a identificação de populações em risco de desenvolver doenças específicas, adequando tratamentos e medidas preventivas personalizadas ao grupo mais propenso a responder com maior eficácia (Osório, 2003; Schlesinger, et al. 2013).

Um estudo realizado em Cuba, que tem uma população com origem ancestral tri-híbrida como a brasileira, revelou diferenças de proporção nas médias de miscigenação dentro dos grupos étnicos estabelecidos pelo censo local, destacando a subjetividade envolvida nas categorias "*blanco*", "*mestiços*" e "*negro*". Este estudo revelou também diferenças no padrão de miscigenação entre zonas rurais e urbanas que iam de acordo com dados históricos e arqueológicos da região. A análise utilizando os AIMS em Cuba indicou que as contribuições médias de ancestralidade europeia, africana e americana nativa foram de 72%, 20% e 8%, respectivamente. No entanto, em determinadas províncias orientais as contribuições genéticas de africanos e nativos americanos foram relativamente mais elevadas e as contribuições europeias inferiores em comparação às províncias ocidentais (Marcheco-Teruel, Parra et al. 2014).

A população DM1 em estudo mostrou distorções similares às observadas em Cuba quanto à autodeclaração e média de ancestralidade genômica. Foi possível observar indivíduos autodeclarados brancos com mais de 70% de ancestralidade africana assim como indivíduos declarados negros com contribuição majoritária de ancestralidade europeia. No gráfico 1 foi possível visualizar que os grupos estratificados por autodeclaração apresentam intensa sobreposição quanto aos percentuais de ancestralidade genômica e há constante presença de indivíduos *outliers*, mesmo havendo diferenças estatísticas significativas entre as médias. Os indivíduos que se autodeclararam negros e pardos predominantemente se classificaram de maneira que não refletia sua ancestralidade genômica quanto aos marcadores inferidos. Aqueles que se declararam negros tinham em média 45% de ancestralidade genética africana e 40% de ancestralidade europeia, os pardos, 60% de ancestralidade europeia e 27% de ancestralidade africana. No nosso estudo, 53,2% dos indivíduos se autodeclararam brancos 8,7% negros, 36,8% pardos e 1,2% indígenas. Os mesmos apresentaram no total proporções de ancestralidade genômica média de 67,8% de ancestralidade genômica europeia, 19,7% africana e 11,2% ameríndia.

No Brasil, devido ao processo desordenado de colonização e sua grande extensão territorial é possível observar variações étnicas relevantes entre as regiões. Segundo o IBGE (2010), a população branca está mais concentrada no sul do país e diminui à medida que avançamos para as regiões norte e nordeste (Manta, 2013). A maioria da população negra estaria localizada nas regiões nordeste e sudeste, enquanto a região norte apresenta a maior concentração de ameríndios, característica que decresce na medida em que se avança para o sul do país. A estrutura genética ancestral da população brasileira tem sido relatada como aproximadamente 80% europeia, 15% africana e 5% ameríndia, com variações regionais. Quanto à autodeclaração, no nordeste, por exemplo, 59,7% dos indivíduos se declaram pardos 29% brancos, 9,4% pretos e 0,3% indígenas (IBGE, 2010). No trabalho já publicado por Manta, Pereira et al (2013) (Saloum de Neves Manta, Pereira et al. 2013) e na população DM1 deste estudo, os Estados do nordeste estão mais próximos geneticamente da população de referência europeia do painel CEHP e da região Sul do país. O Estado da Bahia é o que apresenta o percentual mais elevado de ancestralidade africana (40%), mas ainda assim revela maior proximidade genética da população europeia (51%) quanto aos 46 AIM-INDELS inferidos ($F_{st}=0.08618$). A população DM1 do Ceará apresentou em média 69% de contribuição ancestral europeia, 16% africana e 14% ameríndia. Os dados já publicados da região nordeste apresentam as seguintes proporções de mistura para região: 55 % europeia, 26,5% africana e 16% ameríndia.

Ao categorizar os indivíduos deste estudo de acordo com a proporção de mistura, foram observados 19 haplótipos diferentes, o que pode ser considerado um indicador do quão diversificada pode ser a população brasileira, apresentando diferentes níveis de miscigenação. Os três haplótipos mais comuns foram: I - o que era relativo a 81% ou mais de ascendência europeia, que apresentou uma frequência de 32,2%; II - o que apresentou ascendência europeia entre 61-80% e africana entre 21-40%, com frequência de 15,4%; III - com percentuais de ascendência europeia e africana entre 41 e 60%, com frequência de 10,2% na população estudada. Apenas três indivíduos (0,6%) puderam ser categorizados, de acordo com os critérios adotados, como ameríndios (com % de ancestralidade genômica ameríndia entre 61-80). O haplótipo com contribuição percentual de ancestralidade ameríndia acima de 20% mais frequente foi visto em apenas em 4% dos indivíduos. Os demais haplótipos com 20% ou mais de contribuição ancestral ameríndia obtiveram frequências entre 2,5-0,2%. Por conta da baixa representatividade estatística, este grupo étnico foi excluído das análises estatísticas posteriores.

O perfil de ancestralidade genética da população DM1 é concordante com as informações já publicadas da população brasileira saudável, incluindo dados referentes aos 46 marcadores utilizados neste estudo. Entretanto, é notável a discordância entre a etnia autodeclarada e a genômica. Nossas análises reforçam a existência de estratificação populacional substancial em populações miscigenadas o que torna a categorização étnica desses indivíduos um desafio especial. Grupos contendo pessoas com diferentes níveis de mistura também podem ser particularmente úteis para estudos genético-epidemiológicos, pois há a necessidade de controlar os efeitos que a etnia pode trazer, como por exemplo, em estudos de associação, caso controle e efeito atribuído a polimorfismos (Marcheco-Teruel, et al. 2014).

Com base no exposto, pode-se argumentar que o uso da auto-atribuição de cor pode não ser o parâmetro ideal para estudos em populações miscigenadas, como a brasileira por ser influenciada por diversos fatores como: pigmentação da pele, do cabelo e dos olhos, traços faciais e históricos familiar, bem como, fatores externos que podem variar da exposição à luz solar ao nível de renda, classe social e escolaridade (Pena et al, 2011). Cabe aos pesquisadores buscarem métodos eficazes para tal na tentativa de diminuir o viés que a classificação étnica inadequada pode trazer aos estudos genéticos.

A frequência de determinados alelos e diferentes fenótipos variam substancialmente entre grupos raciais, levando a diferenças na expressão dos próprios fenótipos na saúde e na doença (Fine, Ibrahim et al. 2005). Os genes HLA são os mais polimórficos do genoma humano e a ocorrência destes alelos em alguns casos é específica á determinada etnia. Alelos e combinações específicas destes genes são considerados o principal fator genético para a deflagração da autoimunidade no diabetes tipo 1.

O DM1 possui uma incidência até quatro vezes maior em caucasianos e a maioria dos estudos de genes candidatos, estudos de ligação ou associação foram realizados em populações europeias, as quais foram estabelecidas grandes amostras de indivíduos ancestralmente homogêneos e expostos a variações ambientais também homogêneas (Marshall, Butler et al. 2005). Entre diferentes populações, as condições ambientais não são as mesmas e diferenças sutis dentro de um contexto genético podem ser o suficiente para alterar o risco associado a determinado alelo em uma doença (Freedman, et al, 2013). Populações miscigenadas representam desafios, pois nem todos os indivíduos apresentam o mesmo grau de miscigenação tampouco compartilham a mesma história genealógica para todos os loci, além de ser geneticamente mais diversa e apresentar frequências diferentes para os mesmos alelos presentes nas populações parentais (Shriner, et al. 2011).

Black, et al. (2013), buscou associar a presença de haplótipos HLA com diferentes fenótipos observados no DM1 e associou a presença do haplótipo DRB1*03-DQB1XX a altos títulos de anticorpos anti-GADA e IA-2A em latinos-americanos, o que não foi observado em não portadores deste alelo da mesma etnia (OR: 1,82 IC: 1,05-3,15). Em negros, haplótipos com o alelo DRB1*01, considerado neutro em caucasianos, apresentou maior risco de desenvolvimento de cetoacidose diabética no início da doença (OR: 3,62 IC: 1,18-11,06), enquanto brancos portadores deste alelo apresentaram início mais tardio em comparação àqueles não portadores ($10,7 \pm 0,2$ vs $10,1 \pm 0,2$ anos; $p = 0,037$). Este estudo além de associar as frequências de haplótipos HLA-DRB1 -DQB1 com apresentações clínicas da doença também sugere um papel distinto destes haplótipos de acordo com a etnia principalmente para alelos considerados neutros ou protetores.

A maioria dos haplótipos HLA de suscetibilidade relatados neste estudo é de origem caucasiana (48,74%), mas algumas particularidades puderam ser observadas. Lipton Drum et al (2011), publicaram dados referentes a uma população americana, com indivíduos de diferentes grupos étnicos, onde relata que 64% dos haplótipos presentes eram de suscetibilidade, 14% de proteção, 12% neutro e 11% de efeito indefinido. A idade ao diagnóstico média encontrada em Negros foi de 9,0 anos de idade, em Brancos e Latinos 7,7 anos e no grupo determinado Outros 9,2 anos (Lipton, et al. 2011).

Outro artigo publicado em 2013, também realizado na população americana, relata as seguintes médias de idade ao diagnóstico: Brancos $10,2 \pm 0,1$; Negros $9,8 \pm 0,3$ e hispânicos $10,1 \pm 0,3$ (Black, et al. 2013). Neste estudo americano não foi possível observar diferenças na IDD entre os grupos raciais nos EUA, mas foram relatadas diferenças nas frequências de alelos e haplótipos DRB1-DQB1 entre os mesmos. Características clínicas diferenciadas também foram descritas entre os principais grupos étnicos nos EUA, tais como, diferenças no perfil de autoanticorpos, ocorrência de cetoacidose no início da doença e prevalência de sobrepeso.

Na população DM1 brasileira, 66,35% dos haplótipos são de suscetibilidade, 28,3% de proteção, 4% neutros e 5% indefinidos. Foram vistos também, consideravelmente, mais haplótipos de proteção do que o esperado. Nos grupos étnicos estabelecidos de acordo com a ancestralidade genômica, na população DM1 brasileira, obtivemos as seguintes médias de IDD: Africanos 16,02; Ameríndios 12,6; caucasianos 16,96; miscigenados 15; miscigenado/africano 16; miscigenado/ameríndio 15; e miscigenado/caucasiano 15,9. Em todos os grupos étnicos a população DM1 brasileira apresentou IDD maior quando comparada aos dados de populações americanas. Apesar de não observarmos neste estudo associação

isolada da etnia sobre a idade ao diagnóstico a ocorrência da doença parece ser retardada na população miscigenada brasileira, o que pode ser reflexo de diferenças na frequência de alelos e interações particulares gene-ambiente, exclusivas da população brasileira.

Lipton, et al (2011), relatou a presença de haplótipos de suscetibilidade DQA1-DQB1 menor do que o esperado em indivíduos DM1 não caucasianos (52% Suscetibilidade; 13% neutros e 20% de proteção 18% indefinido). Na população DM1 brasileira, os indivíduos do grupo étnico Africano, definido por ancestralidade genômica, obtiveram 58,8% de haplótipos de suscetibilidade, 35,2% de proteção e 5,8% com efeito indefinido. O grupo étnico africano (com 35,2% de haplótipos de proteção), o grupo de miscigenados (34%) e o subgrupo Mis/Cau (29%) foram os que apresentaram maiores percentuais de haplótipos de proteção ou efeito indeterminado (Efeito Indeterminado – Mis/Afr: 11,35%; Mis/Cau: 7,27%). O grupo caucasiano foi o que obteve maior percentual de haplótipos de suscetibilidade (68,7%) e o segundo menor percentual de haplótipos com efeito indeterminado (4%), menor apenas que o grupo miscigenado que apresentou com 4,5% de haplótipos de efeito indeterminado.

Na análise de influência da ancestralidade do haplótipo sobre a idade ao diagnóstico, ao considerarmos cada haplótipo individualmente não observamos diferenças significativas entre as médias de IDD, mas ao assumir a ancestralidade dos dois haplótipos simultaneamente foi revelada diferença estatística significativa, sugerindo um efeito cumulativo.

Um aspecto importante da genética do MHC é que estes genes estão em desequilíbrio de ligação, ou seja, a herança ocorre em blocos com uma associação não aleatória dos alelos. Muitos desses blocos são conservados e com frequências variáveis entre os principais grupos étnicos ou localizações geográficas (Zúñiga, 2013). No total de haplótipos na amostra, 38 foram classificados como NR (não relatados anteriormente em alta resolução de acordo com o banco de dados *Allele Frequency*), destes, 31 permaneceram sem efeito algum atribuído ao DM1. Os haplótipos NR apresentaram uma IDD de em média 14 anos de idade, este dado, sugere que esses haplótipos podem estar relacionados com o risco de desenvolvimento da doença. Pouco se sabe sobre combinações de alelos ou haplótipos conservados de populações miscigenadas latino-americanas. Até o momento não há grandes estudos de associação HLA e caso-controle de diabetes tipo 1 na população brasileira. A definição do efeito destes haplótipos seria de grande contribuição para o entendimento da diversidade genética em populações miscigenadas e uma possível influência no padrão de desenvolvimento da doença.

O mesmo poderia ser elucidado através da comparação da sequência de aminoácidos dos alelos de efeito desconhecido com aqueles já estão bem estabelecidos ou através de realização de um estudo caso-controle mais abrangente. Haplótipos considerados neutros ou

protetores também parecem ter influencia na gravidade dos casos de DM1 que não são explorados, principalmente em minorias étnicas e raciais (Black, et al. 2013; Zúñiga, 2013).

Nas análises do efeito relacionado ao haplótipo sobre a IDD observamos, como esperado, uma associação positiva na IDD dos haplótipos relatados com efeito de suscetibilidade e desconhecido, a associação foi inversa na presença de haplótipos considerados protetores. Este efeito foi reforçado na análise em que foi considerado simultaneamente o efeito dos dois haplótipos presente em cada indivíduo, reduzindo, por exemplo, a IDD quando observamos a presença de dois haplótipos de suscetibilidade ou de efeito desconhecido.

O genótipo de risco DR3/DR4 já foi relatado como mais frequente em indivíduos com aparecimento precoce da doença (Howson, et al. 2012). O efeito relacionado ao genótipo DR3/DR4 parece ser diferente em afro-americanos, que o apresentam em apenas 12% dos casos, enquanto na população europeia a proporção de heterozigotos DR3/DR4 pode chegar a até 40% em pacientes DM1 (Noble, et al. 2013). Até os 15 anos de idade, 5% de crianças com este genótipo irá desenvolver autoimunidade e DM1 em comparação com apenas 0,3% da população em geral de acordo com a literatura internacional (Rewers, 2012).

Na população deste estudo foram observados 106 casos de DR3/DR4 (22%) com IDD média de $14,8 \pm 2,25$ anos. A ocorrência deste genótipo nos indivíduos classificados de acordo com a ancestralidade genômica foi de 46,2% em caucasianos e 34% em miscigenado/caucasiano. Nos demais grupos a frequência deste genótipo não chegou 10%. A média de IDD nos portadores de DR3/DR4 foi menor do que a observada na estratificação feita por ancestralidade genômica (Média IDD por ancestralidade genômica: Cau - 16,1; Afr - 16,9; Mis - 15; Mis/Afr - 16,3; Mis/Cau - 15,9. vs Média IDD nos portadores do genótipo DR3/DR4: Cau - 14,6; Afr - 13; Mis - 14; Mis/Afr - 18,7; Mis/Cau: 13,8), com excessão do grupo Mis/Afr. O efeito pode não ter sido observado neste grupo pelo fato do N (8) ter sido pouco representativo. Um estudo realizado em hispânicos afirma que todos os alelos DR4 são de suscetibilidade em mestiços da América latina, pois estão em desequilíbrio de ligação com DQA1/DQB1 de pré-disposição, incluindo alelos DR4 já relacionados à proteção em outras populações como DRB1*04:03 / *04:07 / *04:11 . Este mesmo estudo afirma que os alelos de proteção em populações miscigenadas são na realidade ancestralmente oriundos de ameríndios (Gorodezky, et al , 2006). Esta afirmação se encaixaria muito bem historicamente com os altos percentuais de haplótipos de proteção encontrados na nossa população, mas apenas 25 haplótipos de origem ameríndia foram encontrados neste estudo e 88% deles já foram associados à suscetibilidade na literatura. Estes haplótipos protetores de fato podem ter

um efeito distinto daquele já relatado em diferentes populações, uma vez que na maioria dos estudos nem todos os principais loci de suscetibilidade (-DRB1, -DQA1 e DQB1) foram genotipados ou tão pouco obtiveram dados em alta resolução, o que dificulta a extrapolação destes resultados.

Estes dados ilustram brevemente o quão diversificado pode ser o efeito e a frequência de alelos e haplótipos HLA em populações miscigenadas, o que pode resultar em variações na apresentação clínica do DM1 de acordo com a raça/etnia. A idade ao diagnóstico é uma variável relevante na previsão da qualidade de vida dos indivíduos com DM1. Quanto mais tardio for o surgimento da doença, provavelmente as disfunções que ocorrem à longo prazo em vários órgãos e tecidos, decorrente do estresse oxidativo que os altos índices glicêmicos provocam também serão retardados (Gorodezkya, et al , 2006). Essas co-morbidades associadas ao DM1 são responsáveis pela diminuição de expectativa/qualidade de vida e aumento de gastos em saúde.

CONCLUSÕES

O intenso grau de miscigenação observado na população estudada pode ser representado pela determinação de 19 haplótipos de ancestralidade com diferentes proporções de mistura ancestral. Os dados de ancestralidade genética deste estudo, em contraponto com os dados de autodeclaração do IBGE, apontam para uma predominância de ancestralidade europeia nas diferentes regiões do país, incluindo a região nordeste e o Estado da Bahia, onde seria esperada maior proximidade genética da população ancestral africana de acordo com fatos históricos e culturais.

Não foi possível observar diferenças estatísticas significativas na frequência dos alelos e haplótipos HLA de acordo com a determinação étnica genômica. Entretanto, dentro dos grupos de indivíduos DM1 bem definidos etnicamente, classificados como Europeus e Africanos, relatamos a presença significativa de haplótipos HLA considerados de proteção ou de efeito desconhecido, além de combinações haplotípicas ainda não relatadas em alta resolução no banco de dados mundial de frequência de alelos e haplótipos HLA. A etnia e o efeito atribuído aos haplótipos HLA mostraram ter influência sobre a variável IDD. O genótipo de risco DR3/DR4 foi mais frequente em pacientes com maior percentual de ancestralidade caucasiana e a IDD observada na presença deste genótipo foi relativamente menor que nos demais grupos étnicos. O comportamento desses haplótipos nos variados grupos étnicos e em populações miscigenadas merece análises minuciosas, principalmente pelo fato de alguns indivíduos serem portadores de haplótipos que não são considerados oriundos da sua etnia e possivelmente apresentarem um efeito não concordante com o descrito anteriormente. A população brasileira apresenta características genéticas extremamente particulares, fruto da miscigenação entre diferentes populações ancestrais ao longo dos séculos, que por sua vez, dificulta a extrapolação dos resultados de estudos de associação HLA e efeito atribuído á estes genes realizados em populações puras ou caucasiana/europeia, como ocorre na maioria das vezes, por ser o grupo étnico mais bem estudado em relação ao DM1.

REFERÊNCIAS

- Abbas AK. *Imunologia Básica: funções e distúrbios do sistema imunológico*. 2 ed; 2007.
- Alves-Silva J, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *American journal of human genetics*. 2000;67(2):444-61.
- Azambuja TP, et al. Análise dos polimorfismos HLA-DQB1*0201/DQB1*0302 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1 no vale dos sinos. *RBAC*. 2010;42(2):119-22.
- Balda CA, Pacheco-Silva A. Immunologic aspects of type 1 diabetes mellitus. *Rev Assoc Med Bras*. 1999;45(2):175-80.
- Bell CG, et al. Genome-wide DNA methylation analysis for diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC medical genomics*. 2010;3:33.
- Bidulescu A, et al. Associations of adiponectin with individual European ancestry in African Americans: the Jackson Heart Study. *Frontiers in genetics*. 2014;5:22.
- Black MH, et al. HLA-associated phenotypes in youth with autoimmune diabetes. *Pediatric diabetes*. 2013;14(2):121-8.
- Bradfield JP, et al. A genome-wide meta-analysis of six type 1 diabetes cohorts identifies multiple associated loci. *PLoS genetics*. 2011;7(9):e1002293.
- Brorsson C, et al. The type 1 diabetes - HLA susceptibility interactome--identification of HLA genotype-specific disease genes for type 1 diabetes. *PLoS one*. 2010;5(3):e9576.
- Brorsson C, et al. Correlations between islet autoantibody specificity and the SLC30A8 genotype with HLA-DQB1 and metabolic control in new onset type 1 diabetes. *Autoimmunity*. 2011;44(2):107-14.
- Burchard EG, et al. The importance of race and ethnic background in biomedical research and clinical practice. *The New England journal of medicine*. 2003;348(12):1170-5.
- Castro LC. Avaliação da Idade de Início do Diabetes Mellitus tipo 1 no período de 1980 a 2010 no Distrito Federal. [database on the Internet]. 2010 [acesso em 10 mar. 2015]. Disponível em: http://sites.correioweb.com.br/app/50,114/2013/07/22/noticia_saudeplena,144088/incidencia-de-diabetes-tipo-1-aumenta-3-ao-ano.shtml.
- Cooper RS, Kaufman JS, Ward R. Race and genomics. *The New England journal of medicine*. 2003;348(12):1166-70.
- Couper JJ. Environmental triggers of type 1 diabetes. *Journal of paediatrics and child health*. 2001;37(3):218-20.
- Daneman D. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2006;367(9513):847-58.

Denes B, Fodor I, Langridge WH. Autoantigens plus interleukin-10 suppress diabetes autoimmunity. *Diabetes technology & therapeutics*. 2010;12(8):649-61.

Durso DF, et al. Association of genetic variants with self-assessed color categories in Brazilians. *PloS one*. 2014;9(1):e83926.

Erlich H, et al. HLA DR-DQ haplotypes and genotypes and type 1 diabetes risk: analysis of the type 1 diabetes genetics consortium families. *Diabetes*. 2008;57(4):1084-92.

Excoffier LGL, Schneider, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*.

Fallahi P, et al. Cytokines and HCV-related disorders. *Clinical & developmental immunology*. 2012;2012:468107.

Fernandes AP, et al. Immunogenetic factors associated with type 1 diabetes mellitus. *Revista latino-americana de enfermagem*. 2005;13(5):743-9.

Fine MJ, Ibrahim SA, Thomas SB. The role of race and genetics in health disparities research. *American journal of public health*. 2005;95(12):2125-8.

Freedman BI, Divers J, Palmer ND. Population ancestry and genetic risk for diabetes and kidney, cardiovascular, and bone disease: modifiable environmental factors may produce the cures. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2013;62(6):1165-75.

Gorodezkya C, Alaeza C et al. HLA and autoimmune diseases: Type 1 diabetes (T1D) as an example". *Autoimmunity Reviews*. 2005;5(3):187-194.

Hassan GA, et al. Role of immune system modulation in prevention of type 1 diabetes mellitus. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2012;16(6):904-9.

Howson JM, et al. Evidence of gene-gene interaction and age-at-diagnosis effects in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2012;61(11):3012-7.

Ionescu-Tirgoviste C, et al. An increasing trend in the incidence of type 1 diabetes mellitus in children aged 0-14 years in Romania-ten years (1988-1997) EURODIAB study experience. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2004; 17(7):983-91.

Kanatsuna N, et al. Etiopathogenesis of insulin autoimmunity. *Anatomy research international*. 2012;2012:457546.

Kruger AJ, et al. Leptin treatment confers clinical benefit at multiple stages of virally induced type 1 diabetes in BB rats. *Autoimmunity*. 2011;44(2):137-48.

Kunz M, Ibrahim SM. Cytokines and cytokine profiles in human autoimmune diseases and animal models of autoimmunity. *Mediators of inflammation*. 2009;2009:979258.

Lipton RB, et al. HLA-DQ haplotypes differ by ethnicity in patients with childhood-onset diabetes. *Pediatric diabetes*. 2011;12(4 Pt 2):388-95.

Maahs DM, et al. Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2010;39(3):481-97.

Manta FS, et al. Analysis of genetic ancestry in the admixed Brazilian population from Rio de Janeiro using 46 autosomal ancestry-informative indel markers. *Annals of human biology*. 2013;40(1):94-8.

Manta FSdN, et al. Revisiting the genetic ancestry of Brazilians using autosomal AIM-Indels. *PloS one*. 2013;8(9):e75145.

Manta, FSdN. Marcadores inserção/deleção (indel): estudo de ancestralidade e identificação humana na população brasileira: Universidade do Estado do Rio de Janeiro 2013.

Marcheco-Teruel B, et al. Cuba: exploring the history of admixture and the genetic basis of pigmentation using autosomal and uniparental markers. *PLoS genetics*. 2014;10(7):e1004488.

Marshall BC, et al. Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *The Journal of pediatrics*. 2005;146(5):681-7.

Marshall MCJr. Diabetes in African Americans. *Postgraduate medical journal*. 2005;81(962):734-40.

Mersha TB, Abebe T. Self-reported race/ethnicity in the age of genomic research: its potential impact on understanding health disparities. *Human genomics*. 2015;9:1.

Miao F, et al. Histone methylation patterns are cell-type specific in human monocytes and lymphocytes and well maintained at core genes. *J Immunol*. 2008;180(4):2264-9.

Noble JA, et al. HLA class II genotyping of African American type 1 diabetic patients reveals associations unique to African haplotypes. *Diabetes*. 2013;62(9):3292-9.

Noble JA, et al. Race-specific type 1 diabetes risk of HLA-DR7 haplotypes. *Tissue antigens*. 2011;78(5):348-51.

Noble JA, Valdes AM. Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes. *Current diabetes reports*. 2011;11(6):533-42.

Nystrom L, et al. The Swedish childhood diabetes study. An analysis of the temporal variation in diabetes incidence 1978-1987. *International journal of epidemiology*. 1990;19(1):141-6.

Osório RG. O sistema classificatório de "cor ou raça" do IBGE. In: IPEA, editor. 2003.

Patterson CC, et al. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet*. 2009;373(9680):2027-33.

Pena SD, et al. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al]*. 2009;42(10):870-6. Epub 2009/09/10.

Pereira R, et al. Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. *PloS one*. 2012;7(1):e29684. Epub 2012/01/25.

Pociot F, et al. Genetics of type 1 diabetes: what's next? *Diabetes*. 2010;59(7):1561-71. Epub 2010/07/01.

Pociot F, McDermott MF. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes and immunity*. 2002;3(5):235-49.

Pugliese A. The insulin gene in type 1 diabetes. *IUBMB life*. 2005;57(7):463-8.

Rakyan VK, et al. Identification of type 1 diabetes-associated DNA methylation variable positions that precede disease diagnosis. *PLoS genetics*. 2011;7(9):e1002300.

Rewers M. Challenges in diagnosing type 1 diabetes in different populations. *Diabetes & metabolism journal*. 2012;36(2):90-7.

Sandholzer TFAH. The Epidemiology of Type 1 Diabetes Mellitus, *Type 1 Diabetes*, Dr. Alan Escher (Ed.). In: InTech, editor. 2013.

Schlesinger D, et al. African ancestry protects against Alzheimer's disease-related neuropathology. *Molecular psychiatry*. 2013;18(1):79-85.

Semzezem CDOAV. Associação dos antígenos leucocitários humanos com o diabetes mellitus tipo 1. *Revista saúde e pesquisa*. 2009;2(2):233-9.

Sesterheim PSD, Staub H. Diabetes Mellitus tipo 1: multifatores que conferem suscetibilidade à patogénia auto-imune. *Scientia Medica*. 2007;17(4):212-7.

Shriner D, et al. Mapping of disease-associated variants in admixed populations. *Genome biology*. 2011;12(5):223.

Suarez-Kurtz G, et al. Impact of population admixture on the distribution of the CYP3A5*3 polymorphism. *Pharmacogenomics*. 2007;8(10):1299-306.

Valdes AM, et al. Receiver operating characteristic analysis of HLA, CTLA4, and insulin genotypes for type 1 diabetes. *Diabetes care*. 2013;36(9):2504-7.

Varney MD, et al. HLA DPA1, DPB1 alleles and haplotypes contribute to the risk associated with type 1 diabetes: analysis of the type 1 diabetes genetics consortium families. *Diabetes*. 2010;59(8):2055-62.

Wassel CL, et al. Genetic ancestry is associated with subclinical cardiovascular disease in African-Americans and Hispanics from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2009;2(6):629-36.

Zúñiga JYN, et al. HLA Class I and Class II Conserved Extended Haplotypes and Their Fragments or Blocks in Mexicans: Implications for the Study of Genetic Diversity in Admixed Populations. *PloS one*. 2013;8(9).

APÊNDICE – Resultados detalhados das frequências alélicas e haplotípicas HLA

| HAPLÓTIPOS | | | | |
|-------------------|-------------|-------------|-------------------|----------|
| DQA1 | DQB1 | DRB1 | Frequência | N |
| 0501 | 0201 | 0301 | 0,23542 | 226 |
| 0201 | 0202 | 0701 | 0,05937 | 57 |
| 03aa | 0302 | 0405 | 0,05103 | 49 |
| 03ab | 0302 | 0405 | 0,04792 | 46 |
| 05ad | 0201 | 0301 | 0,04063 | 39 |
| 0301 | 0302 | 0402 | 0,03991 | 38 |
| 0301 | 0302 | 0401 | 0,03982 | 38 |
| 01ac | 0501 | 0101 | 0,02708 | 26 |
| 0102 | 0604 | 1302 | 0,02396 | 23 |
| 03ab | 0202 | 0901 | 0,02083 | 20 |
| 01ac | 0501 | 0102 | 0,01978 | 19 |
| 03aa | 0302 | 0402 | 0,01946 | 19 |
| 0301 | 0302 | 04db | 0,01714 | 16 |
| 0401 | 0402 | 0801 | 0,01563 | 15 |
| 03aa | 0202 | 0901 | 0,01250 | 12 |
| 03aa | 0302 | 0401 | 0,01227 | 12 |
| 01ac | 0501 | 1001 | 0,01146 | 11 |
| 0102 | 0502 | 1601 | 0,01042 | 10 |
| 0103 | 0603 | 1301 | 0,01042 | 10 |
| 03aa | 0302 | 04db | 0,00994 | 10 |
| 05ae | 0301 | 12de | 0,00938 | 9 |
| 0102 | 0602 | 1501 | 0,00833 | 8 |
| 0102 | 0602 | 1503 | 0,00833 | 8 |
| 0101 | 0501 | 0101 | 0,00625 | 6 |
| 0101 | 0501 | 0102 | 0,00625 | 6 |
| 0102 | 0609 | 1302 | 0,00625 | 6 |
| 0301 | 0302 | 0403 | 0,00625 | 6 |
| 0301 | 0302 | 0411 | 0,00625 | 6 |
| 05ae | 0301 | 1104 | 0,00625 | 6 |
| 0103 | 0603 | 13di | 0,00521 | 5 |
| 01ac | 0507 | 0102 | 0,00521 | 5 |
| 03ab | 0301 | 0401 | 0,00521 | 5 |
| 0401 | 0319 | 0804 | 0,00521 | 5 |
| 05ae | 0301 | 1103 | 0,00521 | 5 |
| 0102 | 0501 | 1302 | 0,00417 | 4 |
| 0102 | 0502 | 1602 | 0,00417 | 4 |
| 0102 | 0602 | 1101 | 0,00417 | 4 |
| 01ac | 0501 | 0103 | 0,00417 | 4 |
| 01ac | 0507 | 0101 | 0,00417 | 4 |
| 03aa | 0201 | 0405 | 0,00417 | 4 |
| 03aa | 0302 | 0411 | 0,00417 | 4 |
| 03ab | 0302 | 04da | 0,00417 | 4 |
| 0401 | 0402 | 0302 | 0,00417 | 4 |
| 05ae | 0301 | 0804 | 0,00417 | 4 |
| 05ae | 0301 | 1101 | 0,00417 | 4 |
| 0201 | 0303 | 0701 | 0,00313 | 3 |
| 03aa | 0302 | 0901 | 0,00313 | 3 |
| 05ad | 0301 | 1303 | 0,00313 | 3 |
| 05ae | 0301 | 1102 | 0,00313 | 3 |
| 05ae | 0301 | 1303 | 0,00313 | 3 |
| 0102 | 0502 | 1501 | 0,00208 | 2 |
| 01ac | 0503 | 14dl | 0,00208 | 2 |
| 0301 | 0302 | 0407 | 0,00208 | 2 |
| 03aa | 0202 | 0405 | 0,00208 | 2 |
| 03aa | 0301 | 0401 | 0,00208 | 2 |
| 03aa | 0302 | 04df | 0,00208 | 2 |
| 03aa | 0302 | 04dj | 0,00208 | 2 |
| 03ab | 0301 | 04dg | 0,00208 | 2 |
| 0401 | 0402 | 0807 | 0,00208 | 2 |
| 0501 | 0201 | 0404 | 0,00208 | 2 |
| 0503 | 0301 | 1402 | 0,00208 | 2 |
| 05ad | 0301 | 1101 | 0,00208 | 2 |
| 05ad | 0301 | 1102 | 0,00208 | 2 |
| 05ae | 0301 | 0901 | 0,00208 | 2 |
| 05ae | 0319 | 1102 | 0,00208 | 2 |
| 01ac | 0501 | 0405 | 0,00105 | 1 |
| 03aa | 0302 | 0102 | 0,00105 | 1 |
| 0201 | 0202 | 0301 | 0,00104 | 1 |
| 0501 | 0201 | 0701 | 0,00104 | 1 |
| 0101 | 0501 | 0401 | 0,00104 | 1 |
| 0101 | 0501 | 1001 | 0,00104 | 1 |
| 0101 | 0507 | 0402 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0501 | 1301 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0501 | 1501 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0502 | 0901 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0502 | 1101 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0502 | 1104 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0502 | 1302 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0505 | 1104 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0505 | 1601 | 0,00104 | 1 |

| | | | | | | | | | |
|------|------|------|---------|---|------|------|------|---------|---|
| 0102 | 0507 | 1301 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0202 | 04da | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0602 | 1602 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0202 | 0701 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0604 | 14dl | 0,00104 | 1 | 03ab | 0301 | 0407 | 0,00104 | 1 |
| 0102 | 0619 | 1501 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0301 | 04dm | 0,00104 | 1 |
| 0103 | 0501 | 1301 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0301 | 1001 | 0,00104 | 1 |
| 0103 | 0601 | 1502 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0302 | 0401 | 0,00104 | 1 |
| 0103 | 0603 | 1302 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0302 | 0410 | 0,00104 | 1 |
| 0103 | 0604 | 1301 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0302 | 1501 | 0,00104 | 1 |
| 01ac | 0501 | 0128 | 0,00104 | 1 | 03ab | 0302 | 1601 | 0,00104 | 1 |
| 01ac | 0501 | 12de | 0,00104 | 1 | 03ab | 0303 | 0901 | 0,00104 | 1 |
| 01ac | 0503 | 1404 | 0,00104 | 1 | 0401 | 0201 | 0301 | 0,00104 | 1 |
| 0201 | 0202 | 0401 | 0,00104 | 1 | 0401 | 0201 | 0801 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0201 | 0401 | 0,00104 | 1 | 0401 | 0301 | 0804 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0202 | 1501 | 0,00104 | 1 | 0401 | 0402 | 0802 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0302 | 0301 | 0,00104 | 1 | 0401 | 0402 | 0804 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0302 | 04dg | 0,00104 | 1 | 0402 | 0402 | 0801 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0302 | 1104 | 0,00104 | 1 | 0501 | 0201 | 0101 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0302 | 12de | 0,00104 | 1 | 0501 | 0201 | 0307 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 03ba | 0402 | 0,00104 | 1 | 0501 | 0201 | 0337 | 0,00104 | 1 |
| 0301 | 0402 | 0410 | 0,00104 | 1 | 0501 | 0203 | 0302 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0201 | 0402 | 0,00104 | 1 | 0503 | 0301 | 1406 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0201 | 04dn | 0,00104 | 1 | 0510 | 0201 | 0301 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0202 | 0701 | 0,00104 | 1 | 0510 | 0301 | 1104 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0202 | 1503 | 0,00104 | 1 | 0510 | 0301 | 12de | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0301 | 0407 | 0,00104 | 1 | 05ad | 0201 | 0102 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0301 | 0409 | 0,00104 | 1 | 05ad | 0201 | 0352 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0301 | 04dk | 0,00104 | 1 | 05ad | 0301 | 1104 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0302 | 0404 | 0,00104 | 1 | 05ae | 0201 | 0804 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0302 | 0407 | 0,00104 | 1 | 05ae | 0301 | 11dc | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0302 | 0410 | 0,00104 | 1 | 05ae | 0301 | 11dh | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0302 | 0429 | 0,00104 | 1 | 05ae | 0301 | 1301 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0303 | 0901 | 0,00104 | 1 | 05ae | 0319 | 1101 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0303 | 1301 | 0,00104 | 1 | 05ae | 03bb | 1303 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0304 | 0408 | 0,00104 | 1 | 0102 | 0301 | 1302 | 0,00104 | 1 |
| 03aa | 0341 | 1301 | 0,00104 | 1 | | | | | |
| 03aa | 0401 | 0405 | 0,00104 | 1 | | | | | |
| 03aa | 0501 | 0401 | 0,00104 | 1 | | | | | |
| 03aa | 604 | 04da | 0,00104 | 1 | | | | | |
| 03ab | 0201 | 0401 | 0,00104 | 1 | | | | | |
| 03ab | 0202 | 0405 | 0,00104 | 1 | | | | | |

| ALELOS | | | | | | | |
|--------|------------|------|------------|------|------------|------|------------|
| DQA1 | Frequência | DQB1 | Frequência | DRB1 | Frequência | DRB1 | Frequência |
| 0101 | 0.015658 | 0201 | 0.296451 | 0101 | 0.038622 | 1301 | 0.017745 |
| 0102 | 0.085595 | 0202 | 0.103340 | 0102 | 0.033403 | 1302 | 0.037578 |
| 0103 | 0.019833 | 0203 | 0.001044 | 0103 | 0.004175 | 1303 | 0.007307 |
| 01ac | 0.078288 | 0301 | 0.072025 | 0128 | 0.001044 | 13di | 0.005219 |
| 0201 | 0.064718 | 0302 | 0.280793 | 0301 | 0.279749 | 1402 | 0.002088 |
| 0301 | 0.120042 | 0303 | 0.006263 | 0302 | 0.005219 | 1404 | 0.001044 |
| 03aa | 0.145094 | 0304 | 0.001044 | 0307 | 0.001044 | 1406 | 0.001044 |
| 03ab | 0.091858 | 0319 | 0.008351 | 0337 | 0.001044 | 14dl | 0.003132 |
| 0401 | 0.032359 | 0341 | 0.001044 | 0352 | 0.001044 | 1501 | 0.014614 |
| 0402 | 0.001044 | 03ba | 0.001044 | 0401 | 0.065762 | 1502 | 0.001044 |
| 0501 | 0.242171 | 03bb | 0.001044 | 0402 | 0.062630 | 1503 | 0.009395 |
| 0503 | 0.003132 | 0401 | 0.001044 | 0403 | 0.006263 | 1601 | 0.012526 |
| 0510 | 0.003132 | 0402 | 0.026096 | 0404 | 0.003132 | 1602 | 0.005219 |
| 05ad | 0.051148 | 0501 | 0.088727 | 0405 | 0.107516 | | |
| 05ae | 0.045929 | 0502 | 0.020877 | 0407 | 0.005219 | | |
| | | 0503 | 0.003132 | 0408 | 0.001044 | | |
| | | 0505 | 0.002088 | 0409 | 0.001044 | | |
| | | 0507 | 0.011482 | 0410 | 0.003132 | | |
| | | 0601 | 0.001044 | 0411 | 0.010438 | | |
| | | 0602 | 0.021921 | 0429 | 0.001044 | | |
| | | 0603 | 0.016701 | 04da | 0.006263 | | |
| | | 0604 | 0.026096 | 04db | 0.027140 | | |
| | | 0609 | 0.006263 | 04df | 0.002088 | | |
| | | 0619 | 0.001044 | 04dg | 0.003132 | | |
| | | 604 | 0.001044 | 04dj | 0.002088 | | |
| | | | | 04dk | 0.001044 | | |
| | | | | 04dm | 0.001044 | | |
| | | | | 04dn | 0.001044 | | |
| | | | | 0701 | 0.065762 | | |
| | | | | 0801 | 0.017745 | | |
| | | | | 0802 | 0.001044 | | |
| | | | | 0804 | 0.012526 | | |
| | | | | 0807 | 0.002088 | | |
| | | | | 0901 | 0.041754 | | |
| | | | | 1001 | 0.013570 | | |
| | | | | 1101 | 0.012526 | | |
| | | | | 1102 | 0.007307 | | |
| | | | | 1103 | 0.005219 | | |
| | | | | 1104 | 0.011482 | | |
| | | | | 11dc | 0.001044 | | |
| | | | | 11dh | 0.001044 | | |
| | | | | | | | |
| | | | | 12de | 0.012526 | | |

TABELA COM CÓDIGOS ATRIBUÍDOS ÀS AMBIGUIDADES:

| DQA1 | CÓDIGOS |
|-------------------------|---------|
| 03:02/03:03 | 03ab |
| 03:01/03:02/03:03 | 03aa |
| 01:01/01:04/01:05 | 01ac |
| 05:01/05:05/05:09 | 05ad |
| 05:05/05:09 | 05ae |
| DQB1 | |
| 03:02/03:05 | 03ba |
| 03:01/03:19 | 03bb |
| DRB1 | |
| 14:01/14:54 | 14dl |
| 13:01/13:02 | 13di |
| 12:01/12:10 | 12de |
| 11:04/11:06 | 11dc |
| 11:02/11:03 | 11dh |
| 04:05/04:08 | 04da |
| 04:04/04:23 | 04db |
| 04:04/04:05/04:08/04:23 | 04df |
| 04:03/04:04/04:23 | 04dn |
| 04:02/04:05/04:08 | 04dk |
| 04:02/04:04 | 04dj |
| 04:01/04:05/04:08 | 04dm |
| 01:01/04:01 | 04dg |

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO:

Estratégias de rastreamento e diagnóstico da retinopatia e neuropatia diabética e identificação de biomarcadores de complicações crônicas em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 associado a análise econômica do tratamento.

COORDENADOR GERAL DO PROJETO: Prof Dra Marília de Brito Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL DO CENTRO: “COLOCAR O DO SEU CENTRO”

LOCAL DE REALIZAÇÃO DO PROJETO: “COLOCAR O DO SEU CENTRO”

O Sr (a) está sendo convidado (a) para participar de um estudo multicêntrico acadêmico sob a coordenação geral da Prof. Dra. Marília de Brito Gomes (UERJ) e responsabilidade do seu centro do “ Dr (a) COLOCAR O DO SEU CENTRO ” do Serviço de “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ”.

Os objetivos deste estudo estão descritos neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. É importante que você entenda por que o estudo está sendo realizado e o que ele envolverá.

Portanto, leia com calma e atenção e analise cuidadosamente estas informações antes de decidir se você deseja participar. Não hesite em fazer perguntas para a equipe do estudo caso algum ponto não esteja claro ou se você desejar mais informações.

O Sr(a) deve ler e assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes que quaisquer atividades relacionadas ao estudo possam ser realizadas.

OBJETIVOS DO PROJETO:

Avaliar a prevalência das complicações crônicas microvasculares e macrovasculares (retinopatia, nefropatia, neuropatia periférica e autonômica cardíaca e doença cardiovascular) em pacientes diabéticos tipo 1 (DM1) em acompanhamento em unidades ambulatoriais e hospitais públicos conveniados ao Sistema Único de Saúde (SUS) nas diferentes regiões do Brasil e avaliação dos custos da doença .

Identificar marcadores demográficos, clínicos e laboratoriais das complicações crônicas relacionadas ao DM1.

Avaliar a predisposição genética ao DM1 conferida pelo sistema de histocompatibilidade [HLA] e avaliar a distribuição dos diferentes marcadores genéticos de risco e proteção para as complicações crônicas do

diabetes (nefropatia e retinopatia diabética) nos pacientes portadores de DM 1 e em controles não diabéticos das diferentes regiões do Brasil.

A partir dos resultados de prevalência e dos custos da doença e de suas complicações e das disponibilidades de intervenção de cada centro, avaliaremos a possibilidade de instituímos estratégias terapêuticas em parceria com o SUS.

DADOS E PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS:

- Coleta de dados referentes à doença através de um questionário, exame físico e de fundo de olho;
- Coleta de sangue de 10 ml de sangue para análise bioquímica (lipidograma, creatinina e ac.úrico pelo centro e TSH (caso haja disponibilidade do centro);
- Coleta de sangue 6 ml para análise da HbA1c (caso o centro não realize por HPLC-BIORAD) e de 12 ml para análise de ,PCR-US,TSH (caso o centro não faça) e armazenamento de amostras
- Coleta de 10 ml de sangue para análise dos polimorfismos genéticos descritos acima;
- Coleta de 2 amostras randômicas de urina para análise de microalbuminúria;

Todo o material coletado (sangue e urina) será utilizado para as análises do presente estudo. O material será encaminhado ao laboratório do “COLOCAR O DO SEU CENTRO”, Telefone “COLOCAR O DO SEU CENTRO”, para análise bioquímica e ao laboratório da Disciplina de Diabetes da UERJ para análise de TSH, (caso o centro não faça) , PCRUS e HbA1c (caso o centro não realize por HPLC-BIORAD. O material coletado para análise dos polimorfismos genéticos será encaminhado ao Laboratório de Histocompatibilidade (HLA) da UERJ para extração do DNA e posteriormente encaminhado aos centros de referência para análise específica. As amostras de DNA serão armazenadas no laboratório de HLA da UERJ para análise de futuros marcadores genéticos de risco de complicações da doença. As amostras de soro serão armazenadas no Laboratório da Disciplina De Diabetes e Metabologias da UERJ. Toda nova pesquisa a ser feita com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e, quando for o caso, da CONEP.

Será realizada avaliação cardiológica em repouso e através de testes funcionais, com o objetivo de detecção de doenças cardiológicas e risco de desenvolvimento de doença cardíaca no futuro.

A avaliação cardiovascular será realizada pelos métodos descritos abaixo. Todos os centros farão Eletrocardiograma (ECG) de repouso. As investigações adicionais dependerão da disponibilidade de cada centro.

- Realização de ECG de repouso
- Realização de Ecocardiograma e Eco Doppler de carótidas e vertebrais através da técnica de ultrassonografia com Doppler.
- Realização do teste ergométrico que registra a atividade elétrica do coração durante o esforço físico .Este teste será realizado através da colocação de eletrodos na região precordial, que avaliará o ritmo cardíaco, alterações de pressão arterial, frequência cardíaca e alterações do ECG durante caminhada na esteira.

- Realização de testes de análise autonômica do sistema cardiovascular: o exame tem duração de cerca de 15 a 20 minutos e é indolor. É semelhante a um ECG, com a diferença de que em um momento do exame será necessário que você faça algumas manobras: respirar profundamente, assoprar contra uma válvula e levantar-se.
- Testes para avaliação de microcirculação: exame não invasivo, indolor, que consiste na colocação de uma sonda sobre a pele do antebraço para avaliar a função endotelial em repouso, em resposta ao calor e à oclusão arterial (através da elevação da pressão arterial com manguito). Além disso será realizada difusão de acetilcolina e nitroprussiato de sódio para avaliação de resposta vasodilatadora.
- Escore de cálcio coronariano: será realizado uma tomografia computadorizada para avaliação da quantidade de cálcio depositada nas artérias do coração.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS COLETADOS:

Todas as informações coletadas serão mantidas em caráter sigiloso e utilizadas apenas para fins científicos.

PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO:

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Se o Sr (a) aceitou inicialmente em participar do estudo e depois decidiu sair por qualquer razão, você não terá nenhum prejuízo em seu atendimento dentro deste hospital.

CUSTOS:

Não haverá nenhum custo para você participar do estudo.

RISCOS E BENEFÍCIOS:

RISCOS: Sua participação neste estudo não vai prejudicar o tratamento da sua doença, nem causar nenhum dano ao Sr (a).

BENEFÍCIOS: Não haverá nenhum benefício direto se o Sr (a) participar deste estudo, porém a pesquisa produzirá resultados que poderão ajudar outros pacientes no futuro.

CONTATO:

Se o Sr (a) tiver dúvida ou necessitar de esclarecimentos sobre a pesquisa, por favor, entre em contato com a Dr (a) “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ” ou Dr (a) “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ”, através dos telefones “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ” .

Para obter informações adicionais sobre seus direitos como sujeito de pesquisa referente à sua participação neste estudo, por favor, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ” localizado na “COLOCAR O DO SEU CENTRO ” , CEP “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ” , Brasil, no telefone “ COLOCAR O DO SEU CENTRO ”.

CONSENTIMENTO:

Confirmo que após receber todas as informações referente ao estudo, inclusive os riscos e benefícios, ler e entender o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tirar todas as minhas dúvidas, concordo em participar voluntariamente do estudo.

PACIENTE:

| |
|---------------|
| Nome completo |
| Assinatura |
| Data: |

PESQUISADOR RESPONSÁVEL ou PESSOA AUTORIZADA:

| |
|---------------|
| Nome completo |
| Assinatura |
| Data: |

Uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá ser entregue ao paciente para que possa levar para casa.

ANEXO B – Questionário

| 1. INFORMAÇÕES GERAIS | | Data: ___/___/_____ | Informante: () (1) Próprio (2) Outro |
|--|---|---------------------|--|
| Hora do início da entrevista: _____ | | | |
| 1.1 Cidade | | | (0) (1) |
| 1.2 Região (A) e Estado (B) | | | A. (1) B. (0) (1) |
| 1.3 Código do local | | | [1] |
| 1.4 Nível de atenção | (1) Primária (2) Secundária (3) Terciária | | [3] |
| 1.5 Identificação do entrevistador | | | (0)(1) (1) () |
| 1.6 Data da entrevista (dia/mês/ano) | | _____/_____/_____ | |
| 1.7 Número de registro do hospital | | _____ | |
| 1.8 Tempo de seguimento no centro (Em meses) | | _____ | |
| 2. CONSENTIMENTO INFORMADO | | | |
| 2.1 O consentimento fo assinado? | (1) Sim (2) Não | | () |
| 2.2 Qual o seu nome? Letra de forma | _____ | | |
| 2.3 Local (A) e número de telefone principal de contato (B)? | (A)Local | | A.() B. _____ |
| | (1) Casa (2) Trabalho (3) Vizinho (4) Celular (5) Não tem | | |
| 2.4 Endereço atual Letra de forma | _____ | | |
| 2.5 CEP | _____ | (99999999) Não sabe | () () () () () () () () () |
| 2.6 Sexo | (1) Masculino (2) Feminino | | () |
| 2.7 Idade, em anos (Se for em meses transformar em anos) | _____ | | () |
| 2.8 Data de nascimento (Dia/Mês/Ano) | | | (/ /) |
| 2.9 Estado onde nasceu? Letra de forma | _____ | | () |
| 2.10 Cor (auto referida) | (1) Branca (2) Preta (3) Parda/Mulata (4) Amarela/Oriental | | |

| | | | |
|--|---|---|------------------|
| | (5) Indígena | | () |
| 2.11 Estado Civil | (0) Não se aplica (criança < 6 anos) (1) Solteiro (2) Casado/Amasiado (3) Viúvo (4) Separado/Divorciado | | () |
| 2.12 Qual a sua escolaridade? (A) <i>Se < 18 anos, solicitar escolaridade do chefe de família ?(B)</i> | A.(0) Não se aplica (criança < 6 anos) (1) Analfabeto (2) Ensino Fundamental incompleto (3) Ensino Fundamental Completo (4) Ensino médio incompleto (5) Ensino médio completo (6) Ensino superior incompleto (7) Ensino superior completo (8) Pós-graduação | B.(1) Analfabeto (2) Ensino Fundamental incompleto (3) Ensino Fundamental Completo (4) Ensino médio incompleto (5) Ensino médio completo (6) Ensino superior incompleto (7) Ensino superior completo (8) Pós-graduação (9) Não se aplica (paciente > 18 anos) | A. () B. () |
| 2.13 Anos de estudo(até o momento) | | | () anos |
| 2.14. Atividade Profissional nos últimos 12 meses ? (Ocupação principal) Se for estudante escrever em outros | (0) Não se aplica (Criança) (1) Estudante (2) Funcionário public (3) Trabalhador com carteira assinada (4) Autônomo (5) Dona de casa (6) Aposentado(a) (7) Aposentado(a) pelo diabetes (8) Desempregado pelo diabetes (9) Desempregado por outro motivo (10) Voluntário(a) (11) Licenciado pelo INSS ou outros (12) Outros/Definir: _____ | | () |
| 2.15 Descrição da função dentro da categoria profissional (Letra de forma) | _____ | | |
| 2.16 Aposentadoria | (0) Não se aplica (<18 anos) (1) Sim, no tempo certo (2) Não (3) Sim, mais precoce pelo diabetes (4) Sim, mais precoce por outra causa Descrever: _____ | | () |
| 2.17 Ano da aposentadoria | _____ | (0000) Não se aplica Não se aposentou | () |
| 2.18 Qual é a renda mensal familiar, em salários mínimos? | (1) Menos de 1 salário (2) 1 a 5 salários (3) 6 a 10 salários (4) 11 a 15 salários (5) >16 salários (6) Bolsa família (9) Não sabe | | () |

| | | | | |
|---|---|---|------------------------------------|-----------|
| | | informar | | |
| 2.19 Quantas pessoas vivem com a renda ? | | (1) 1 (2) 2 (3) 3 (4) 4 (5) 5 ou mais | | () |
| 2.20 Quantos destes itens você possui? E quantos? Posse de itens: 0; 1; 2; 3; 4 ou + | Itens | | Número de itens | |
| | A. TV em cores | | | () |
| | B. Rádio | | | () |
| | C. Banheiro | | | () |
| | D. Automóvel | | | () |
| | E. Empregada com carteira assinada | | | () |
| | F. Aspirador de pó | | | () |
| | G. Máquina de lavar/ tanquinho | | | () |
| | H. Video cassete ou DVD | | | () |
| | I. Geladeira | | | () |
| | J. Freezer duplex ou separado | | | () |
| 2.21 Tipo e número de conduções para chegar ao local de Tratamento do Diabetes | (A) Tipo | | (B) Número | |
| | (1) Ônibus (2) Trem (3) Metrô (4) Van (5) Carro próprio (6) Não usa condução | | A.() B. _____ | |
| 2.23 Você necessita de acompanhante para vir ao hospital? | A. | | B. Número | |
| | (1) Sim (2) Não | | A.() B. _____ | |
| 2.24 Possui plano de saúde? | A. (1) Sim (2) Não | | B. Qual? Descrever _____ | |
| | | | A.() B. _____ | |
| 3. SINTOMAS INICIAIS DO DIABETES MELLITUS | | | | |
| 3.1 Idade ao diagnóstico do DM1, em anos (Se for em meses, transformar em anos) | | | | () |
| 3.2 Mês e Ano do diagnóstico de diabetes Caso não souber o mês por só o ano | | _____ (9999) Não sabe | | ____/____ |
| 3.3 Quais os principais sintomas que você teve quando foi diagnosticado o diabetes? | A. Polís(urinar muito, muita sede, muita fome) | | (1) Sim (2) Não | A. () |
| | B. Astenia (cansaço) | | (1) Sim (2) Não | B. () |
| | C. Enurese noturna (urinar na cama) | | (1) Sim (2) Não | C. () |
| | D. Parestesias (Formigamento) | | (1) Sim (2) Não | D. () |
| | E. Baixa acuidade visual | | (1) Sim (2) Não | E. () |
| | F. Prurido (coceira) | | (1) Sim (2) Não | F. () |
| | G. Anorexia (Falta de apetite) | | (1) Sim (2) Não | G. () |
| | H. Sonolência | | (1) Sim (2) Não | H. () |
| | I. Deficiência de crescimento | | (1) Sim (2) Não | I. () |
| | J. Infecções de repetição | | (1) Sim (2) Não | J. () |

| | | | |
|---|--|---|------------------|
| | K. Perda de peso | (1)Sim (2)Não | K. () |
| | L. Outros (Descrever) | (1)Sim (2)Não | L. () |
| 3.4 Infecção nos últimos 6 meses antes do diagnóstico do diabetes? | A. Caxumba | (1)Sim (2)Não | A. () |
| | B. Rubéola | (1)Sim (2)Não | B. () |
| | C. Catapora | (1)Sim (2)Não | C. () |
| | D. Dengue | (1)Sim (2)Não | D. () |
| | E. Rotavírus | (1)Sim (2)Não | E. () |
| | F. Citomegalovírus | (1)Sim (2)Não | F. () |
| | G. Sarampo | (1)Sim (2)Não | G. () |
| | H. Amigdalite | (1)Sim (2)Não | H. () |
| | I. Outros (Descrever): _____ | (1)Sim (2)Não | I. () |
| 3.5 Como foi feito o diagnóstico do DM1? | (1) Glicemia de jejum (2) Curva glicêmica (3) Glicemia ao acaso (4) Internação com Cetoacidose (5) Internação sem Cetoacidose (6) Outros (especificar): _____ | | () |
| 3.6 Qual foi o tempo decorrido entre o início dos sintomas e o diagnóstico? | (1) Menor que 4 semanas (1 mês) (2) 1 a 6 meses (3) 6 meses a 1 ano (4) Maior que 1 ano | | () |
| 3.7 Acredita que algum fator emocional ou psicológico contribuiu para o início da doença? | (1) Sim Descrever: _____ (2) Não | | () |
| 3.8 O Sr (a) nasceu de parto normal ou cesárea? | (1) Parto normal (2) Parto cesárea | | () |
| 3.9 Qual a sua ordem de nascimento? | Colocar o número na casela | | () |
| 4. HISTÓRIA PESSOAL | | | |
| 4.1 Qual o peso ao nascimento? | (1) Menor que 2 Kg (2) 2,1 - 2,5 Kg (2) 2,6 - 3 Kg (3) 3,1-3,5 Kg (4) 3,6 - 4 Kg (5) Maior que 4 Kg | | () |
| 4.2 Teve amamentação exclusiva com leite materno? (A) Quanto tempo? (B) | A. (1) Sim (2) Não | B. (1) Menos de 1 mês (2) ≥ 1 mês e < 3 meses (3) ≥ 3 e < 6 meses (4) ≥ 6 meses | A. () B. () |
| 4.3 Completou esquema de vacinação do Ministério da Saúde? Se for criança e estiver com esquema de vacinação atualizado colocar sim. | (1) Sim (2) Não | | () |

| | | | |
|--|--|---|------------------|
| 4.4 Idade da primeira menstruação | Anos: _____ | | |
| | (00) Não se aplica (Homem ou menina que ainda não mesntruou) | () | |
| 4.5 Idade da menopausa | () Sim (Anos) _____ (02) Ausente (00) Não se aplica (Homem) | () | |
| 4.6 Menopausa cirúrgica? | A. (01) Sim (02) Não (00) Não se aplica (Homem) | B. Anos _____ A. () B. () | |
| 4.7 Número de gestações que já teve? (A) Número de nascidos vivos (B) | A.(1) Nenhuma (2) Uma (3) Duas (4) Três (5) Quatro (9) Cinco ou mais (0) Não se aplica (Homem) | B.(1) Nenhum (2) Uma (3) Duas (4) Três (5) Quatro (9) Cinco ou mais (0) Não se aplica (Homem) | A. () B. () |
| 4.8 Usa anticoncepcional hormonal? | (1) Sim Descrever: _____ (2) Não (0) Não se aplica (Homem) | () | |
| 4.9 Tabagismo | (1) Fumante diário (2) Fumante ocasional (3) Ex-fumante (4) Não fumante | () | |
| Classificação de tabagismo segundo OMS: | <i>Fumante diário= 1 cigarro/dia por no mínimo 1 mês</i> <i>Fumante ocasional= Menos de 1 cigarro/dia por no mínimo 1 mês</i> <i>Ex- Fumante = pararam de fumar há pelo menos 1 mês</i> <i>Não Fumante = não fumam ou fumam há menos de 1 mês</i> | | |
| 4.10 Em relação ao uso de drogas ilícitas, em que opção o sr(a) se enquadra? | (0) Não se aplica (criança) (1) É usuário (2) Ex- usuário (3) Nunca usou drogas ilícitas (pular para 4.12 e deixar casela 4.11 em branco) | () | |
| 4.11 Em caso de uso de drogas (atual ou ex-usuário), descrever qual droga. | (0) Não se aplica (criança) (1) Maconha (2) Cocaína (3) Crak (4) Ecstasy (5) Outros _____ | () | |
| 4.12 Prática exercícios de rotina? | (1) Apenas no fim de semana (2) Não faz (2) 1 - 2 x/semana (3) 2 - 3 x/semana | | |

| | | | | | | | | | | | |
|---|--|--|--|--|----------|--|--|-------|--|---|--|
| | (4) 3 - 5x/semana | | | | | | | | | | |
| | (5) > 5x/ semana | () | | | | | | | | | |
| 4.13 Etilismo | (1) Etilista (2) Ex-etilista (Pular para 4.14 e deixar casela 4.13.1 em branco) (3) Não etilista (Pular para 4.14 e deixar casela 4.13.1 em branco) | () | | | | | | | | | |
| Classificação de etilismo segundo OMS: | <i>Etilista: Consumo de pelo menos 1 dose de qualquer bebida alcoólica no último ano</i> <i>Ex-etilista: Já consumiu bebida alcoólica, mas parou de consumir no último ano</i> <i>Não-etilista: Nunca consumiu bebida alcoólica na vida</i> | | | | | | | | | | |
| 4.13.1 Classificação do etilismo | (1) Etilista leve (2) Etilista moderado (3) Etilista grave | () | | | | | | | | | |
| Classificação de etilismo segundo OMS: (1 Unidade (U) álcool = 10 g) 10 g = Cerveja 350 ml ou Vinho 90 ml ou Destilado 50 ml | <table border="0"> <tr> <td>Leve</td> <td>Homens 2 latas cerveja/dia ou 2 taças de vinho/dia ou 1 dose de destilado/dia Total: 21U/semana 2-4 latas de cerveja/dia ou 2-6 taças de vinho/dia ou 1-3 doses de destilado/dia Total: 22-50 U/semana</td> <td>Mulheres 1 lata de cerveja/dia ou 1 taça de vinho/dia ou 1/2 dose de destilado/dia Total: 14U/semana 1-3 latas de cerveja/dia ou 1-5 taças de vinho/dia ou 1/2 a 2^{1/2} doses de destilado/dia Total: 15-35 U/semana</td> </tr> <tr> <td>Moderado</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Grave</td> <td>> 4 latas de cerveja/dia ou > 6 taças de vinho/dia ou > 3 doses de destilado/dia Total: > 51 U/semana</td> <td>> 3 latas de cerveja/dia ou > 5 taças de vinho/dia ou > 2^{1/2} doses de destilado/dia Total: > 36 U/semana</td> </tr> </table> | Leve | Homens 2 latas cerveja/dia ou 2 taças de vinho/dia ou 1 dose de destilado/dia Total: 21U/semana 2-4 latas de cerveja/dia ou 2-6 taças de vinho/dia ou 1-3 doses de destilado/dia Total: 22-50 U/semana | Mulheres 1 lata de cerveja/dia ou 1 taça de vinho/dia ou 1/2 dose de destilado/dia Total: 14U/semana 1-3 latas de cerveja/dia ou 1-5 taças de vinho/dia ou 1/2 a 2 ^{1/2} doses de destilado/dia Total: 15-35 U/semana | Moderado | | | Grave | > 4 latas de cerveja/dia ou > 6 taças de vinho/dia ou > 3 doses de destilado/dia Total: > 51 U/semana | > 3 latas de cerveja/dia ou > 5 taças de vinho/dia ou > 2 ^{1/2} doses de destilado/dia Total: > 36 U/semana | |
| Leve | Homens 2 latas cerveja/dia ou 2 taças de vinho/dia ou 1 dose de destilado/dia Total: 21U/semana 2-4 latas de cerveja/dia ou 2-6 taças de vinho/dia ou 1-3 doses de destilado/dia Total: 22-50 U/semana | Mulheres 1 lata de cerveja/dia ou 1 taça de vinho/dia ou 1/2 dose de destilado/dia Total: 14U/semana 1-3 latas de cerveja/dia ou 1-5 taças de vinho/dia ou 1/2 a 2 ^{1/2} doses de destilado/dia Total: 15-35 U/semana | | | | | | | | | |
| Moderado | | | | | | | | | | | |
| Grave | > 4 latas de cerveja/dia ou > 6 taças de vinho/dia ou > 3 doses de destilado/dia Total: > 51 U/semana | > 3 latas de cerveja/dia ou > 5 taças de vinho/dia ou > 2 ^{1/2} doses de destilado/dia Total: > 36 U/semana | | | | | | | | | |
| 4.14 Em relação ao uso de anabolizantes (hormonal), em que opção o sr(a) se enquadra? | (1) É usuário (2) Ex- usuário (3) Nunca usou anabolizantes (0) Não se aplica (criança) | () | | | | | | | | | |
| 4.15 A sua vontade de ter relações sexuais (libido) está alterada? | (1) Sim (2) Não (3) Não sabe ou não quis responder (0) Não se aplica (criança) | () | | | | | | | | | |
| 4.16 Com que frequência você faz exame dos dentes e gengiva no dentista? | (1) 1x/ano (2) 2 x/ano (2) 1 x/ 5 anos (0) Nunca fiz | () | | | | | | | | | |
| 5.HISTÓRIA FAMILIAR | | | | | | | | | | | |
| 5.1 Diabetes tipo 1 (grau de parentesco) | A.(1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) | | | | | | | | | | |

| | | |
|--|---|------------------|
| <i>Quando for mais de 1 parente de 1 grau marcar com 1 círculo em volta dos números corretos e por o número 6 na casela</i> | (5) Avós ou Tios ou Primos | |
| | (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.2 Diabetes tipo 2 (grau de parentesco) | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.3 Obesidade (grau de parentesco) | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.4 Hipertensão Arterial (grau de parentesco) | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.5 Doença Coronariana precoce (infarto, dor no peito ao esforço físico) <55a homen <65a mulher (grau de parentesco) | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.6 Doença Tiroidiana | A. (1)Hipotiroidismo (2) Hipertiroidismo (3) Nódulo tiroidiano (4) Câncer (5) Não há histórico familiar B. (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau/Descrever: _____ | A. () B. () |

| | | |
|---|--|------------------|
| | (8) Não há histórico familiar | |
| 5.7 Doença Celíaca | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.8 Vitiligo | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.9 Alopecia (queda de cabelo acentuada) | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 5.10 Artrite reumatóide | (1) Pai (2) Mãe (3) Irmão/Irmã (4) Filho(a) (5) Avós ou Tios ou Primos (6) Mais de 1 parente em 1º grau Descrever: _____ (7) Parente de 1º e 2º grau Descrever: _____ (8) Não há histórico familiar | () |
| 6. AVALIAÇÃO DA DIETA | | |
| 6.1 Você faz algum tipo de dieta? | (1) Sim (2) Não | () |
| 6.2 No último ano teve consulta com nutricionista? | A. (1) Sim (2) Não B. Número de vezes/ano | A. () B. () |
| 6.3 Quem é o principal orientador da sua dieta? | (1) Nutricionista (2) Médico | |

| | | | |
|---|--|--|--|
| | | (3) Outro profissional de saúde | |
| | | (4) Leigo (5) Revistas/ Jornais | A. () |
| 6.4 Você acha que segue a dieta recomendada? | | (1) Sim (2) Não | () |
| 6.5 Qual o tipo principal de dieta que você faz? | (1) Restringe apenas açúcar e doce | | |
| | (2) Dieta de calorias (3) Contagem de carboidratos (4) Índice glicêmico (5) Outras _____ | | () |
| 6.6 Quanto você acha que segue sua dieta? | (1) 100% (2) 80% (3) 50% (4) Menos de 50% | | () |
| 6.7 Qual a maior dificuldade que você acha para seguir a dieta? | A. Deixar de comer doces B. Comer verduras, legumes e frutas C. Respeitar a quantidade de alimentação D. Respeitar o horário da alimentação E. Entender lista de substituição de alimentos | (1) Sim (2) Não (1) Sim (2) Não (1) Sim (2) Não (1) Sim (2) Não (1) Sim (2) Não | A. () B. () C. () D. () E. () |
| 6.8 Qual alimento é usado para tratar a hipoglicemia? | (1) Doces (2) Açúcares (3) Suco de frutas (4) Biscoito recheado, bolachas, pão (5) Outros: _____ | | () |
| 6.9 Consome produtos dietéticos? Se não usa adoçante, deixar opção B em branco Se não usa | A. (1) Sim (2) Não | B. Qual? (1) Adoçante (2) Gelatina (3) Pudim (4) Sorvete (5) Todos (6) Outros: _____ | A. () B. () |
| 7. ATIVIDADES EDUCATIVAS EM DIABETES | | | |
| 7.1 Você teve consultas de enfermagem no último ano? | A. (1) Sim (2) Não | B. Número vezes/ano | A. () B. () |
| 7.2 Qual a finalidade da consulta com enfermagem? | (1) Receber fitas de glicosímetro ou insulina (2) Receber instrução/ educação sobre diabetes (3) Ambas _____ | | () |

| | | | |
|---|---|---|------------------|
| 7.3 Você participou de algum grupo de reunião de pacientes diabéticos no último ano? | A. (1) Sim | B. Número vezes/ano | A. () |
| | (2) Não | | B. () |
| 7.4 Você participou de algum programa de educação para pacientes diabéticos no último ano? | A. (1) Sim | B. Número vezes/ano | A. () |
| | (2) Não | | B. () |
| 7.5 O senhor sabe o que significa HbA1c? (Hemoglobina glicada) | (1) Sim (2) Não (Se não pular para questão 7.7 e deixar casela 7.6 em branco) | | () |
| 7.6 Marque a opção que o senhor ache que significa HbA1c? (Hemoglobina glicada) | (1) Controle do diabetes atual (2) Controle do diabetes dos últimos 3 meses (3) Controle do diabetes no último ano | | () |
| 7.7 O senhor sabe qual o valor ideal de HbA1c (Hemoglobina glicada) para pacientes com diabetes? | (1) Menor que 7% (2) Menor que 8% (3) Menor que 9% | | () |
| 7.8 O senhor sabe o valor da sua última HbA1c? (Hemoglobina glicada) | A.(1) Sim (2) Não | B. Valor _____ | A. () B. () |
| 7.9 O senhor sabe para que serve a monitorização da glicose? | (1) Sim (2) Não | | () |
| 7.10 Após verificação da glicose, o senhor altera o seu tratamento do diabetes? | A.(1) Sim (2) Não | B.(1) Altera a dose de insulina (2) Altera a dieta (3) Altera frequência/ intensidade exercício <i>Se não muda o Tratamento deixar opção B em branco</i> | A. () B. () |
| 8. Uso de insulina | | | |
| Complete a tabela seguinte com as respostas dadas pelo paciente ou que constam no prontuário médico na data da entrevista | | | |
| 8.0 Qual o esquema de insulinização atual? | (1) Insulina de ação lenta/ intermediária (2) Insulina de ação rápida (3) Insulina de ação lenta/ intermediária e rápida (4) Bomba de infusão contínua de insulina | | () |
| 8.1 Qual a insulina lenta que está usando no momento? <i>Se não: pular para a questão 8.5 e deixar demais caselas em branco</i> | (1) NPH (2) Glargina (3) Detemir (4) Não uso | | () |
| 8.2 Dose da insulina lenta que está usando no momento <i>Exemplo:dose que usou ontem</i> | Dose U/dia _____ | | () |
| 8.3 Número de aplicações por dia da insulina lenta que está usando no momento <i>Exemplo: quantas fez ontem</i> | (1) Uma vez (2) Duas vezes (3) Três vezes (4) Quatro vezes (5) Mais de quatro vezes | | () |

| | | |
|---|---|-----|
| 8.4 Como obtém a insulina lenta que está usando no momento? | (1) Recebe grátis no seu hospital | |
| | (2) Recebe grátis na farmácia do SUS | |
| | (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 8.5 Faz uso no momento de insulina de ação rápida? <i>Se não: pular para a questão 8.10 e deixar em branco as demais caselas</i> | (1) Sim, regularmente (2) Não (3) Sim, mas irregularmente (quando tenho) | () |
| 8.6 Qual a insulina rápida que está usando no momento? | (1) Regular (2) Lispro (3) Asparte (4) Glulisina | () |
| 8.7 Dose da insulina rápida que está usando no momento <i>Exemplo: dose que usou ontem</i> | Dose U/dia _____ | () |
| 8.8 Número de aplicações por dia da insulina rápida que está usando no momento <i>Exemplo: quantas fez ontem</i> | (1) Uma vez (2) Duas vezes (3) Três vezes (4) Quatro vezes (5) Mais de quatro vezes | () |
| 8.9 Como obtém a insulina rápida que está usando no momento? | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 8.10 Faz auto-monitorização da glicemia em casa no momento? <i>Se não pular para questão 8.13 e deixar demais caselas em branco</i> | (1) Sim (2) Não | () |
| 8.11 Número de medições de glicemia/dia <i>Exemplo: quantas fez ontem</i> | (1) Uma (2) Duas (3) Três vezes (4) Quatro vezes (5) Cinco (6) Seis (7) Sete a oito | |

| | | |
|--|---|--|
| | (8) Mais de oito | |
| | (9) Outros: _____ | () |
| 8.12 Como obtém as fitas de auto monitorização? | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 8.13 O senhor utiliza seringa ou caneta para aplicação de insulina? | (1) Seringa (2) Caneta | () |
| 8.14 Como obtém as seringas / canetas para aplicação de insulina? | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 8.15 Quantas seringas de insulina o senhor utiliza por mês? | () N = _____ (99) Não sabe | () |
| 8.15.1 O senhor reutiliza a seringa de insulina? | A.(1) Sim (2) Não | B. Se sim quantas vezes: _____ _____ |
| | | A. () B. () |
| 8.16 Quantas agulhas de insulina o senhor utiliza por mês? <i>O senhor reutiliza a agulha de insulina quantas vezes?</i> | () N = _____ | () |
| 8.16.1 O senhor reutiliza as agulhas de insulina? | A.(1) Sim (2) Não | B. Se sim quantas vezes: _____ _____ |
| | | A. () B. () |
| 8.17 Usa aparelho de bomba de insulina? <i>Se não pular para questão 8.20 e deixar demais caselas em branco</i> | (1) Sim - Marca: _____ (2) Não | () |
| 8.18 Como obtém os insumos do aparelho da bomba de insulina? | (1) Recebe grátis no seu hospital (1) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum | |

| | | |
|---|---|--|
| | (5) Recebe grátis após mandato judicial | |
| | (6) Outro órgão público | (7) Indústria farmacêutica |
| | (8) Outras fontes | () |
| 8.19 Dose total diária de insulina bomba de insulina | Dose U/dia _____ | () |
| 8.20 ADERÊNCIA AO TRATAMENTO | | |
| 8.20.1 O (a) sr (a) alguma vez se esquece de aplicar insulina? | A.(0) Sim (1) Não | Não= 1 ponto/ Sim = 0 ponto A. () |
| 8.20.2 O (a) sr (a), às vezes é descuidado com os horários de aplicar sua insulina? | A.(0) Sim (1) Não | Não= 1 ponto/ Sim = 0 ponto A. () |
| 8.20.3 Quando o (a) sr (a) está se sentindo melhor, às vezes para de aplicar insulina? | A.(0) Sim (1) Não | Não= 1 ponto/ Sim = 0 ponto A. () |
| 8.20.4 Algumas vezes, quando o (a) sr (a) se sentiu mal, aumentou a quantidade de insulina a ser aplicada? | A.(0) Sim (1) Não | Não= 1 ponto/ Sim = 0 ponto A. () |
| 8.20.5 Escore de aderência ao tratamento? | Total de pontos = _____ | A. () |
| Escore 0 = adesão máxima Escore 1 a 2 = adesão moderada Escore 3 a 4 = baixa adesão | | |
| 9. USO DE MEDICAÇÕES NO ANO ÚLTIMO | | |
| Complete a tabela seguinte com as respostas dadas pelo paciente ou que constam no prontuário médico na data da entrevista | | |
| Nome da medicação | A. Em uso? | B. Dose Diária total |
| 9.1 Metformina | (1) Sim | _____mg |
| Nome comercial: _____ | (2) Não | (Deixar em branco se não usar) |
| 9.1.1 Como obtém a metformina que está usando no momento? | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público | (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes () |
| <i>Se não pular para questão 9.2 e deixar demais caselas em branco</i> | | |
| 9.2 Estatina | (1) Sim | _____mg |
| princípio ativo _____ | (2) Não | (Deixar em branco se não usar) |
| Nome comercial: _____ | | |
| 9.2.1 Como obtém a estatina que está usando no momento? | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público | (7) Indústria farmacêutica () |
| <i>Se não pular para questão 9.3 e deixar demais caselas em branco</i> | | |

| | | | |
|--|--------------------|---|------------------|
| | | (8) Outras fontes | |
| 9.3 iECA princípio ativo _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () |
| Nome comercial: _____ | | | () |
| 9.3.1 Como obtém o iECA que está usando no momento? <i>Se não pular para questão 9.4 e deixar demais caselas em branco</i> | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 9.4 Diurético Tiazídico princípio ativo _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () B. () |
| Nome comercial: _____ | | | |
| 9.4.1 Como obtém o diurético tiazídico que está usando no momento? <i>Se não pular para questão 9.5 e deixar demais caselas em branco</i> | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 9.5 Diurético Furosemida Nome comercial: _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () B. () |
| 9.5.1 Como obtém o diurético furosemida que está usando no momento? <i>Se não pular para questão 9.6 e deixar demais caselas em branco</i> | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| 9.6 Outros diuréticos princípio ativo _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () B. () |
| Nome comercial: _____ | | | |
| 9.6.1 Como obtém o diurético que está usando no | | (1) Recebe grátis no seu hospital | |

| | | | |
|---|--------------------|---|------------------|
| momento? | | (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| <i>Se não pular para questão 9.7 e deixar demais caselas em branco</i> | | | |
| 9.7 Inibidor de receptor de ATII | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () B. () |
| princípio ativo _____ | | | |
| <i>Nome comercial:</i> _____ | | | |
| 9.7.1 Como obtém o inibidor de receptor ATII que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| <i>Se não pular para questão 9.8 e deixar demais caselas em branco</i> | | | |
| 9.8 AAS ou similares | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () B. () |
| Princípio Ativo _____ | | | |
| <i>Nome comercial:</i> _____ | | | |
| 9.8.1 Como obtém o AAS que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (7) Indústria farmacêutica (8) Outras fontes | () |
| <i>Se não pular para questão 9.9 e deixar demais caselas em branco</i> | | | |
| 9.9 Nitrato | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | A. () B. () |
| Princípio Ativo _____ | | | |
| <i>Nome comercial:</i> _____ | | | |
| 9.9.1 Como obtém o nitrato que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial | |

| | | | | |
|--|--------------------|--|----------------------------|------------------|
| <i>Se não pular para questão 9.10 e deixar demais caselas em branco</i> | | (6) Outro órgão publico (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| 9.10 Hormônio tireoidiano <i>Nome comercial:</i> _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | | A. () B. () |
| 9.10.1 Como obtém o hormônio tireoidiano que está usando no momento? <i>Se não pular para questão 9.11 e deixar demais caselas em branco</i> | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| 9.11 Beta bloqueador Principio Ativo _____ <i>Nome comercial:</i> _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | | A. () B. () |
| 9.11.1 Como obtém o beta bloqueador que está usando no momento? <i>Se não pular para questão 9.12 e deixar demais caselas em branco</i> | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| 9.12 Bloqueador de canal de cálcio Principio Ativo _____ <i>Nome comercial:</i> _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | | A. () B. () |
| 9.12.1 Como obtém o hormônio tireoidiano que está usando no momento? <i>Se não pular para questão 9.13 e deixar demais caselas em branco</i> | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| 9.13 Fibrato Principio Ativo _____ | (1) Sim (2) Não | _____mg (Deixar em branco se não usar) | | A. () B. () |

| | | | | |
|---|--------------------|--|----------------------------|--------|
| Nome comercial: _____ | | | | |
| 9.13.1 Como obtém o fibrato que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| <i>Se não pular para questão 9.14 e deixar demais caselas em branco</i> | | | | |
| 9.14 Antidepressivo | (1) Sim (2) Não | _____mg | A. () B. () | |
| Princípio Ativo _____ | | (Deixar em branco se não usar) | | |
| Nome comercial: _____ | | | | |
| 9.14.1 Como obtém o antidepressivo que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| <i>Se não pular para questão 9.15 e deixar demais caselas em branco</i> | | | | |
| 9.15 Ansiolítico | (1) Sim (2) Não | _____mg | A. () B. () | |
| Princípio Ativo _____ | | (Deixar em branco se não usar) | | |
| Nome comercial: _____ | | | | |
| 9.15.1 Como obtém o ansiolítico que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital (2) Recebe grátis na farmácia do SUS (3) Compra na farmácia popular (4) Compra em farmácia comum (5) Recebe grátis após mandato judicial (6) Outro órgão público (8) Outras fontes | (7) Indústria farmacêutica | () |
| <i>Se não pular para questão 9.16 e deixar demais caselas em branco</i> | | | | |
| 9.16 Outras medicações (uso contínuo) | (1) Sim (2) Não | Nome: | | A. () |
| | | Dose: | | B. () |
| | | Nome: | | A. () |
| | | Dose: | | B. () |
| | | Nome: | | A. () |
| | | Dose: | | B. () |
| 9.16.1 Como obtém estas medicações que está usando no momento? | | (1) Recebe grátis no seu hospital | | |

| | | | | | |
|--|---|--|--------------------|----------------------------|--------------------|
| 10.14 O sr(a) teve hipoglicemia? <i>Se não pular para 10.15 e deixar caselas em branco</i> | | (1) Sim | (2) Não | () | |
| 10.14.1 Se sim, o episódio de hipoglicemia foi: <i>Hipoglicemia leve/moderada: paciente é capaz de auto medicação</i> <i>Hipoglicemia grave: paciente necessita da ajuda de terceiros</i> | | A.1 Leve / Moderado | (1) Sim (2) Não | A.2 Número () | A.1 () A.2 () |
| | | B.1 Grave | (1) Sim (2) Não | B.2 Número () | B.1 () B.2 () |
| 10.14.2 Qual o horário mais frequente da hipoglicemia? | | (1) Manhã (2) Tarde (3) Noite (4) Madrugada (5) Não sabe | | () | |
| 10.14.3 Se sim, esse episódio foi assintomático (<60 mg/dL)? Quantas vezes aconteceram no último mês? | | (1) Sim | (2) Não | A. () B. () vezes | |
| 10.15 Algum episódio de internação no último ano? <i>Se não pular para 10.16</i> | | (1) Sim | (2) Não | () | |
| 10.15.1 Quantas vezes o senhor (a) ficou internado no último ano? <i>Se ficou internado mais de 3 vezes, preencher folha anexa</i> | | () número de vezes | | () | |
| 10.15.2 O senhor ficou internado em: | A. Internação 1 () B. Internação 2 () C. Internação 3 () | (1) Quarto (2) Enfermaria (3) Unidade de terapia intensiva (4) Unidade semi intensiva (5) Emergência | | A. () B. () C. () | |
| <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> <i>Se ficou internado mais de 3 vezes, preencher folha anexa</i> | | | | | |
| 10.15.3 Quantos dias o senhor (a) ficou internado? | A. Internação 1: () dias B. Internação 2: () dias C. Internação 3: () dias | | | A. () B. () C. () | |
| <i>Se ficou internado na emergência por horas, considerar 1 dia</i> <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> | | | | | |
| 10.15.4 Qual foi o motivo da internação? | A. Internação 1 () B. Internação 2 () C. Internação 3 () | (1) Hiperglicemia com cetoacidose (2) Hiperglicemia sem cetoacidose (3) Hipoglicemia (4) Complicações do diabetes Qual: _____ (5) Outros Qual: _____ | | A. () B. () C. () | |
| <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> | | | | | |
| 10.15.5 O senhor acha que houve algum fator desencadeante para sua internação por hiperglicemia? | A. Internação 1 () B. Internação 2 () C. Internação 3 () | (1) Infecção (2) Não houve fator desencadeante (3) Erro da administração de insulina (4) Estresse (5) Outros | | A. () B. () C. () | |
| <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> | | | | | |

| | | | |
|---|---|---------------------|-------------------|
| 10.16 O sr(a) apresenta dor no peito? | (1) Sim | (2) Não | () |
| 10.16.1 A dor no peito piora com esforço? | (1) Sim | (2) Não | () |
| 10.16.2 A dor no peito piora com a respiração? | (1) Sim | (2) Não | () |
| 10.16.3 A dor no peito piora quando aperta? | (1) Sim | (2) Não | () |
| 10.16.4 A dor no peito melhora com repouso? | (1) Sim | (2) Não | () |
| 10.16.5 Qual a duração da dor no peito? | <input type="checkbox"/> Segundos <input type="checkbox"/> Minutos <input type="checkbox"/> Horas | | () |
| 11. DADOS DO PRONTUÁRIO MÉDICO OU OBTIDO DURANTE A ENTREVISTA | | | |
| 11.1 Data da última informação do prontuário Dia/Mês/Ano (Caso não tenha o dia, completar com Mês/Ano e, se não tivero Mês, completar apenas com o Ano) ou obtidos no dia da entrevista | | | _____/_____/_____ |
| 11.2 Quantas consultas médicas compareceu no serviço no último ano? | (1) Uma (2) Duas (3) Três (4) Quatro (5) Cinco (6) Seis (7) Sete ou mais (0) Nenhuma | | () |
| 11.3 Qual a causa das consultas médicas do último ano? | (1) Hipoglicemia (2) Hiperglicemia (3) Infecções (4) Rotina (5) Outras Descrever: _____ | | () |
| 11.4 Você teve consultas com outros médicos no último ano? | A. (1) Sim (2) Não Qual? _____ | B. Número vezes/ano | A. () B. () |
| 11.5 Peso(Kg) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____ Kg | | () |
| 11.6 Altura(cm) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____ cm | | () |
| 11.7 Circunferência abdominal(cm) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____ cm | | () |
| 11.8 Circunferência do quadril(cm) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____ cm | | () |

| | | | |
|--|-------------|--|--------|
| 11.9 PA sistólica(mmHg) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____mmHg | | () |
| 11.10 PA diastólica(mmHg) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____mmHg | | () |
| 11.11 Frequência cardíaca(bpm) (Pode ser obtido durante a entrevista) | _____ bpm | | () |
| 11.12 Exame dos pés: | | | |
| 11.12.1 Úlceras <i>Se não pular para 11.12.5 e deixar demais caselas em branco</i> | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.2 Localização | A. Direito | (1) Plantar (2) Lateral (3) Dedos | A. () |
| | B. Esquerdo | (1) Plantar (2) Lateral (3) Dedos | B. () |
| 11.12.3 Margens | A. Direito | (1) Regulares (2) Irregulares | A. () |
| | B. Esquerdo | (1) Regulares (2) Irregulares | B. () |
| 11.12.4 Dolorosa | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.5 Pulso pedioso | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.6 Pulso tibial | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.7 Pêlos | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.8 Pele seca, rachaduras, fissuras | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.9 Calosidades | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.10 Coloração dos pés | A. Direito | (1)Normal (2)Cianótico (3)Rubor postural | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Normal (2)Cianótico (3)Rubor postural | B. () |
| 11.12.11 Palidez à elevação dos pés | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.12 Veias dorsais | A. Direito | (1)Normais (2)Dilatadas (3)Colabadas | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Normais (2)Dilatadas (3)Colabadas | B. () |
| 11.12.13 Temperatura dos pés | A. Direito | (1)Normal (2)Frio (3) Quente | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Normal (2)Frio (3) Quente | B. () |
| 11.12.14 Unhas atroficas, micóticas | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.15 Mucose Interdigital | A. Direito | (1)Sim (2) Não | A. () |

| | | | | |
|--|--|---|----------------|----------------------|
| | | B. Esquerdo | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.16 Amputação | A. Direito | | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.17 Deformidades <i>Se não tiver deformidades deixar casela A.2 em branco</i> <i>Se não tiver deformidades deixar casela B.2 em branco</i> | A. Direito | A.1 (1)Sim | (2) Não | |
| | | A.2 (1)Dedos em garra (2)Proeminência de metatarsos (3)Acentuação de arcos plantares (4)Desabamento antepé | | A.1 () A.2 () |
| | B. Esquerdo | B.1 (1)Sim B.2 (1)Dedos em garra | (2) Não | |
| | | (2)Proeminência de metatarsos (3)Acentuação de arcos plantares (4)Desabamento antepé | | B.1 () B.2 () |
| 11.12.18 Artropatia de Charcot | A. Direito | | (1)Sim (2) Não | A. () |
| | B. Esquerdo | | (1)Sim (2) Não | B. () |
| 11.12.19 Propriocepção | A. Direito | (1) Normal | (2) Alterada | A. () |
| | B. Esquerdo | (1) Normal | (2) Alterada | B. () |
| 11.12.20 Caminhar nas pontas dos pés | A. Direito | (1) Normal | (2) Alterada | A. () |
| | B. Esquerdo | (1) Normal | (2) Alterada | B. () |
| 11.12.21 Caminhar com calcanhar | A. Direito | (1) Normal | (2) Alterada | A. () |
| | B. Esquerdo | (1) Normal | (2) Alterada | B. () |
| 11.12.22 Monofilamento 10g | A. Direito | (1) Normal | (2) Alterada | A. () |
| | B. Esquerdo | (1) Normal | (2) Alterada | B. () |
| 11.13 Existe a presença de acanthosis nigricans? | (1) Sim (2) Não | | | () |
| 11.14 Exame de fundo de olho no último ano | (1) Sim (2)Não | | | () |
| 11.15 Retinopatia diabética | A.(1) Ausente (2) Retinopatia pré proliferativa (3) Retinopatia proliferativa (4) Edema macular | B. Idade ao diagnóstico _____anos | | B. () |
| 11.16 Laserterapia | A.(1) Sim (2) Não | B. Data da última | | A. () B. ___/___ |
| 11.17 Vitrectomia | A.(1) Sim (2) Não | B. Data da última | | A. () B. ___/___ |
| 11.18 Tem outras patologias oculares? | (0) Não tem (1) Catarata (2) Glaucoma | | | |

| | | | |
|---|--|--|--------------------------------------|
| | (3)Outras Descrever:_____ | () | |
| 11.19 Hipertensão Arterial | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.20 Dislipidemia | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.21 Hipertireoidismo | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.22 Hipotireoidismo (Tireoidite de Hashimoto) | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.23 Nódulo de tireóide | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.24 Doença coronariana | A. Angina (1) Sim (2) Não B. Infarto prévio (1) Sim (2) Não C. Revascularizado (1) Sim (2) Não D. Angioplastia (1) Sim (2) Não | | A. () B. () C. () D. () |
| 11.25 Investigação de doença Coronariana | A. ECG de repouso (1) Sim (2) Não B. Teste ergométrico (1) Sim (2) Não C. Eco de estresse (1) Sim (2) Não | | A. () B. () C. () |
| <i>Crianças < 10 anos farão avaliação de acordo com o centro</i> | D. Cintilografia (1) Sim (2) Não E. Escore de cálcio (1) Sim (2) Não F. Cineangiocoronariografia (1) Sim (2) Não G. Outros (Descrever)_____ | | D. () E. () F. () G. () |
| 11.26 Arritmia cardíaca | A. Fibrilação atrial (1) Sim (2) Não B. Flutter atrial (1) Sim (2) Não C. BAV _____ grau (1) Sim (2) Não D. Outras _____ (1) Sim (2) Não | | A. () B. () C. () D. () |
| 11.27 Doença vascular periférica | A. MMII (1) Sim (2) Não B. Carótidas (1) Sim (2) Não C. Revascularizado (1) Sim (2) Não D. Angioplastia (1) Sim (2) Não | | A. () B. () C. () D. () |
| 11.28 Insuficiência cardíaca | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.29 DPOC/asma | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____anos | A. () B. () |
| 11.30 Neuropatia diabética | A.(0) Não tem neuropatia clínica (1) Polineuropatia sensitivo motora simétrica distal (2) Mononeuropatia (3) Neuropatia autonômica cardiovascular (4) Neuropatia autonômica gastrointestinal | B. Idade diagnóstico _____ anos _____ anos _____ anos _____ anos | |

| | | | |
|--|--|--|--|
| | (5) Neuropatia autonômica genitourinária (disfunção erétil) | _____ anos | A. () |
| | (6) Neuropatia autonômica genitourinária (bexiga neurogênica) | _____ anos | B. () |
| | (7) Mais de 1 neuropatia: Descrever | _____ anos | |
| 11.31 O centro faz exame de microalbuminúria ou encaminha para realizar em laboratório fora da instituição? | (1) Sim, o centro faz de rotina (2) Sim, o centro faz mas só para pesquisa (3) Encaminha para realizar em laboratório fora da instituição (4) O centro não faz e não encaminha pra realizar fora | | () |
| 11.32 Microalbuminúria | A. (1) Sim (2) Não aplicável <i>(Paciente em hemodiálise ou diálise peritoneal)</i> | (B) Valor 1° amostra _____ 2° amostra _____ 3° amostra _____ | A. () B. () () () C. () |
| | C. Unidade: (1) mg/L (2) µg /mg creatinina (3) µg/min | | |
| 11.33 Proteinúria | A. Frequência/ ano _____ B. Valor da última _____ C. Unidade: (1) mg/24 h (2)g/ 24h (3) mg/dL (4) g/L | | A. () B. () C. () |
| 11.34 Nefropatia diabética | A.(0) Não tem nefropatia diabética (1) Nefropatia por microalbuminúria (2 amostras) (2) Nefropatia por macroalbuminúria (2 amostras) (3) Doença renal crônica em tratamento conservador (4) Doença renal crônica em tratamento por hemodiálise (5) Doença renal crônica em tratamento por diálise peritoneal (6) Transplante renal | B. Idade diagnóstico _____ anos _____ anos _____ anos _____ anos _____ anos _____ anos | A. () B. () |
| 11.35 Artrite reumatóide | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____ anos | A. () B. () |
| 11.36 Doença periodontal | A.(1) Sim (2) Não | B. Idade ao diagnóstico _____ anos | A. () B. () |
| 11.37 OUTRAS (perguntar sobre doenças autoimunes) | (1) Sim A. _____ B. _____ | (2) Não | |
| Descreva | C. _____ D. _____ E. _____ | | () |
| 12. ESCORE DE SINTOMAS NEUROPÁTICOS | | | |
| 12.1 Em relação às pernas/pés o sr (a) sente? | Queimação ? | (2) sim= 2 pontos (0) não= 0 ponto | () |

| | | | |
|---|---|--|------------------|
| | Dormência ou formigamento ? | (2) sim= 2 pontos (0) não= 0 ponto | () |
| | Fadiga, câimbra ou dor? | (1) sim= 1 ponto (0) não= 0 ponto | () |
| 12.2 Qual a localização mais frequente deste sintoma? | (2) Pés = 2 pontos (1) Panturrilhas = 1 ponto (0) Outras: _____ = 0 ponto | | () |
| 12.3 Quando ocorre o sintoma? | (2) Durante a noite = 2 pontos (1) Durante o dia e a noite = 1 ponto (0) Apenas durante o dia = 0 ponto | | () |
| 12.4 O que alivia o sintoma? | (2) Caminhar = 2 pontos (1) Levantar-se = 1 ponto (0) Sentar ou deitar = 0 ponto | | () |
| 12.5 O sr(a) já cordou à noite por esses sintomas? | (1) sim= 1 ponto (2) não= 0 ponto | | () |
| 12.6 Total de pontos (Colocar a soma da pontuação) | (3-4) Sintomas leves (5-6) Sintomas moderados (7-9) Sintomas graves | | () |
| 13. ESCORE DE COMPROMETIMENTO NEUROPÁTICO | | | |
| 13.1 Reflexo Aquileu | A. Direito B. Esquerdo | (1)Presente (0 ponto) (2)Presente ao esforço (1ponto) (0) Ausente (2pontos) (1)Presente (0 ponto) (2)Presente ao esforço (1ponto) (0) Ausente (2pontos) | A. () B. () |
| 13.2 Sensibilidade Vibratória | A. Direito B. Esquerdo | (1) Presente (0 ponto) (0) Ausente/diminuída (1pto) (1) Presente (0 ponto) (0) Ausente/diminuída (1pto) | A. () B. () |
| 13.3 Sensibilidade dolorosa | A. Direito B. Esquerdo | (1) Presente (0 ponto) (0) Ausente/diminuída (1pto) (1) Presente (0 ponto) (0) Ausente/diminuída (1pto) | A. () B. () |
| 13.4 Sensibilidade térmica | A. Direito B. Esquerdo | (1) Presente (0 ponto) (0) Ausente/diminuída (1pto) (1) Presente (0 ponto) (0) Ausente/diminuída (1pto) | A. () B. () |
| 13.5 Total de pontos (Colocar a soma da pontuação) | (3-5) Sinais leves (6-8) Sinais moderados (9-10) Sinais graves | | () |
| 14. DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA PERIFÉRICA | | | |
| Diagnóstico de neuropatia na presença de: | | Sinais moderados + Sintomas presentes ou ausentes OU Sinais leves + Sintomas moderados | |

| | | |
|---|---|---|
| 14. | (1) Sim (0) Não | () |
| 15. ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA): INTENSIDADE DA DOR | | |
| | | |
| 15. Qual é a intensidade da dor nas suas pernas / pés? | A. (1) Leve: < 40 (2) Moderado: 40-69 (3) Severa: >70 | B. Valor: _____ A. () B. _____ |
| 16. Exames laboratorias | | |
| (Dados obtidos no prontuário até 1 ano anterior à entrevista) | | |
| 16.1 DATA: DIA/MÊS/ANO | Data referente à última Hemoglobina glicada ____/____/____ | |
| Exame | Consta no prontuário ? | Nº vezes que realizou o exame |
| 16.2 Hemoglobina glicada (HPLC) | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.3 Glicemia de jejum | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.4 Glicemia pós prandial | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.5 Colesterol total | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.6 LDL - Colesterol | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.7 HDL - Colesterol | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.8 Triglicérides | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.9 Creatinina | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.10 Ácido úrico | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.11 Sódio (Na) | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.12 Potássio (K) | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.13 TSH | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.14 T4 livre (Se TSH alterado) | (1) Sim (2) Não A.() | B. () C: _____ |
| 16.15 Vitamina B12 | (1) Sim | |
| | | |

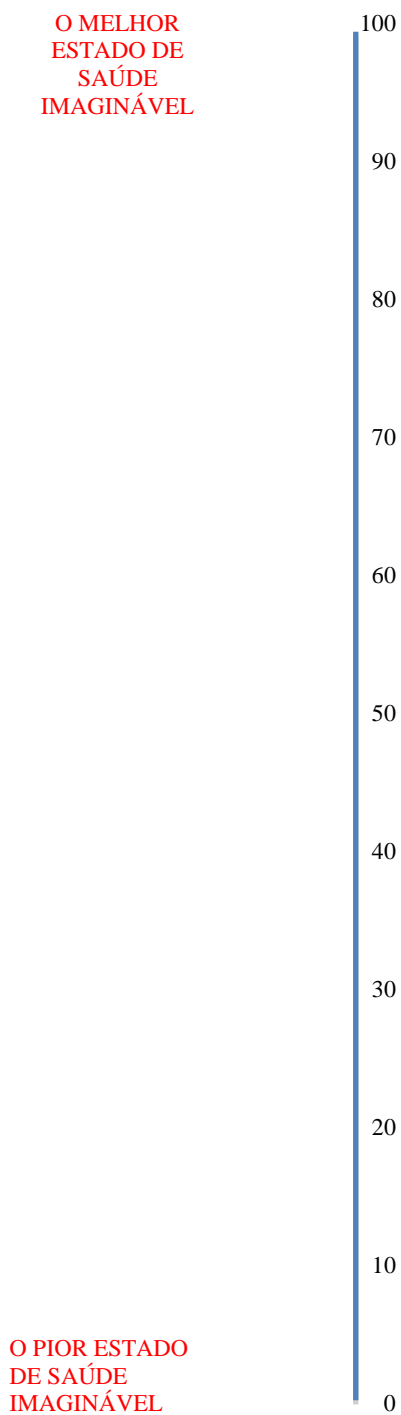
| | | | | |
|--|--------------------------|-------------|------------------------------------|-------------------------|
| | (2) Não A.() | B. () | C:_____ | pg/mL |
| 16.19 PC reativa ultrasensível | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | mg/L |
| 16.20 Albumina | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | g/dL |
| 16.21 Hemácias | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | células/mm ³ |
| 16.22 Hemoglobina | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | g/dL |
| 16.23 Leucócitos totais | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | células/mm ³ |
| 16.24 Plaquetas | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | células/mm ³ |
| 16.25 VHS | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | C:_____ | mm |
| 16.26 Concentração urinária de albumina em spot urinário | (1) Sim (2) Não A.() | B. () | Amostra 1:_____ Amostra 2:_____ | mg/L |
| 17. ECG | DATA | | | ___/___/___ |
| 17.1. Normal <i>Se ECG normal pular para questão 18</i> | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.2. Alterações inespecíficas de repolarização ventricular | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.3. Repolarização precoce | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.4. Desvio de eixo QRS para direita | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.5. Bloqueio de ramo direito | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.6. Bloqueio de ramo esquerdo | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.7. Hemibloqueio anterior esquerdo | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.8. Extra-sístoles supraventriculares | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.9. Extra-sístoles ventriculares | (1) sim | (2) não | () | |
| 17.10. Área inativa | (1) sim | (2) não | () | |
| 18. Avaliação da neuropatia autonômica cardiovascular | | | | |
| 18.1 Data | ___/___/___ | | | (___/___/___) |
| 18.2 Very Low Frequency | (1) sim | Valor:_____ | () | |
| 18.3 Low Frequency | (1) sim | Valor:_____ | () | |
| 18.4 High Frequency | (1) sim | Valor:_____ | () | |
| 18.5 Coeficiente 30:15 | (1) sim | Valor:_____ | () | |
| 18.6 Valsalva | (1) sim | Valor:_____ | () | |
| 18.7 Coeficiente respiratório | (1) sim | Valor:_____ | () | |

| | | |
|---|---|--------|
| 18.8 Queda da Pressão arterial Sistólica (>20 mmHg) | (1) sim (2) não | () |
| 19. EUROQUOL: Avaliação da qualidade de vida (apenas em pacientes >10 anos) | | |
| Solicitar ao pacientes como se sente hoje em relação a: | | |
| 19.1 Mobilidade | (1) não tenho problema em andar (2) tenho alguns problemas em andar (3) estou limitado a ficar na cama/cadeira | () |
| 19.2 Cuidados pessoais | (1) não tenho problemas (2) tenho alguns problemas para me lavar ou me vestir (3) sou incapaz de me lavar ou me vestir sozinho | () |
| 19.3 Atividades habituais (ex:trabalho, estudos, atividades domésticas, atividades em família ou lazer) | (1) não tenho problemas (2) tenho alguns problemas em desempenhá-las (3) sou incapaz de desempenhar minhas atividades | () |
| 19.4 Dor/Mal estar | (1) não tenho dores ou mal-estar (2) tenho dores ou mal-estar moderados (3) tenho dores ou mal-estar extremos | () |
| 19.5 Ansiedade/ Depressão | (1) não estou ansioso ou deprimido (2) estou moderadamente ansioso(a) ou deprimido(a) (3) estou extremamente ansioso(a) ou deprimido(a) | () |
| Questionário SF-6D - Brasil (Marque o item que mais se aproxima da maneira como você se sente) | | |
| 19.6 Capacidade funcional | (1) Sua saúde <u>não</u> dificulta que você faça <u>atividades vigorosas</u> (2) Sua saúde <u>dificulta um pouco</u> que você faça <u>atividades vigorosas</u> (3) Sua saúde <u>dificulta um pouco</u> que você faça <u>atividades moderadas</u> (4) Sua saúde <u>dificulta muito</u> que você faça <u>atividades vigorosas</u> (5) Sua saúde <u>dificulta um pouco</u> para você tomar banho ou vestir-se (6) Sua saúde <u>dificulta muito</u> para você tomar banho ou vestir-se | () |
| 19.7 Limitação global | (1) Você <u>não</u> teve problemas com o seu trabalho ou alguma outra atividade diária regular como consequência de sua saúde física ou algum problema Emocional (2) Você esteve limitado no seu tipo de trabalho ou em outras atividades como consequência de sua saúde física (3) Você realizou menos tarefas do que você gostaria como <u>consequência de algum problema emocional</u> (4) Você esteve limitado no seu tipo de trabalho ou em outras atividades como <u>consequência de sua saúde física</u> e realizou menos tarefas do que você gostaria como consequência de algum problema emocional | () |
| 19.8 Aspectos sociais | (1) Sua saúde física ou problemas emocionais não interferiram em suas atividades sociais <u>em nenhuma parte do tempo</u> (2) Sua saúde física ou problemas emocionais não interferiram em suas atividades sociais <u>em uma pequena parte do tempo</u> (3) Sua saúde física ou problemas emocionais não interferiram em suas atividades sociais <u>em alguma parte do tempo</u> (4) Sua saúde física ou problemas emocionais não interferiram em suas atividades sociais <u>na maior parte do tempo</u> (5) Sua saúde física ou problemas emocionais não interferiram em suas atividades sociais <u>todo o tempo</u> | () |

| | | |
|--|---|-----|
| 19.9 Dor | <p>(1) Você <u>não</u> teve <u>nenhuma</u> dor no corpo</p> <p>(2) Você teve dor, mas a dor <u>não</u> interferiu <u>de maneira alguma</u> em seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa e dentro de casa)</p> <p>(3) Você teve dor, que interferiu <u>um pouco</u> em seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa e dentro de casa)</p> <p>(4) Você teve dor, que interferiu <u>moderadamente</u> em seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa e dentro de casa)</p> <p>(5) Você teve dor, que interferiu <u>bastante</u> em seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa e dentro de casa)</p> <p>(6) Você teve dor, que interferiu <u>extremamente</u> em seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa e dentro de casa)</p> | () |
| 19.10 Saúde mental | <p>(1) Você <u>nunca</u> tem se sentido uma pessoa muito nervosa ou desanimada e abatida</p> <p>(2) Você tem se sentido uma pessoa muito nervosa ou desanimada e abatida <u>em uma pequena parte do tempo</u></p> <p>(3) Você tem se sentido uma pessoa muito nervosa ou desanimada e abatida <u>em alguma parte do tempo</u></p> <p>(4) Você tem se sentido uma pessoa muito nervosa ou desanimada e abatida <u>na maior parte do tempo</u></p> <p>(5) Você tem se sentido uma pessoa muito nervosa ou desanimada e abatida <u>todo o tempo</u></p> | () |
| 19.11 Vitalidade | <p>(1) Você tem se sentido com muita energia <u>todo o tempo</u></p> <p>(2) Você tem se sentido com muita energia <u>na maior parte do tempo</u></p> <p>(3) Você tem se sentido com muita energia <u>em alguma parte do tempo</u></p> <p>(4) Você tem se sentido com muita energia <u>em uma pequena parte do tempo</u></p> <p>(5) Você tem se sentido com muita energia <u>nunca</u></p> <p>(4) Você tem se sentido uma pessoa muito nervosa ou desanimada e abatida</p> | () |
| Questionário WPAI (Produtividade e capacidade diminuída no trabalho - Questionário de saúde geral <i>Problema de saúde = qualquer problema físico ou emocional ou sintoma</i> | | |
| 19.12 Você está atualmente empregado (trabalho remunerado)? <i>Se não pular para questão 19.17</i> | (1) Sim (2) Não | |
| 19.13 Durante os últimos 7 dias, quantas horas você deixou de trabalhar por causa de problemas de saúde? <i>Inclua as horas não trabalhadas quando você esteve doente, chegou atrasado, saiu mais cedo etc., por causa de sua saúde ou problemas digestivos. Não inclua o tempo que você perdeu para participar deste estudo</i> | _____ HORAS | () |
| 19.14 Durante os últimos 7 dias, quantas horas você deixou de trabalhar por causa de qualquer outra razão, como férias, feriado, tempo livre para participar deste estudo? | _____ HORAS | () |
| 19.15 Durante os últimos 7 dias, quantas horas você trabalhou? <i>Se "0" escreva "0" e pule para questão 19.17</i> | _____ HORAS | () |

| | | |
|--|--|--|
| <p>19.16 Durante os últimos 7 dias, quanto os seus problemas afetaram a sua produtividade enquanto você estava trabalhando?</p> <p><i>Pense nos dias que você esteve limitado na quantidade ou tipo de trabalho que você poderia fazer, dias em que você fez menos do que você gostaria, ou dias em que você foi menos cuidadoso do que o normal no seu trabalho.</i></p> <p><i>Se os problemas de saúde afetaram seu trabalho só um pouco, escolha um número baixo.</i></p> <p><i>Escolha um número alto se os problemas de saúde afetaram demais o seu trabalho.</i></p> | | |
| <p>Problemas de saúde não afetaram meu trabalho</p> | <p>_____</p> <p>0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> | <p>Problemas de saúde me impediram completamente de trabalhar</p> <p>()</p> |
| <p>19.17 Durante os últimos 7 dias, quanto os seus problemas afetaram a sua capacidade de fazer suas atividades regulares diárias, (outras além do trabalho do seu emprego)?</p> <p><i>Por atividades regulares, queremos dizer atividades comuns que você faz em casa, fazer compras, cuidar das crianças, ginástica, estudo, etc.</i></p> <p><i>Pense nas vezes que você esteve limitado na quantidade ou tipo de atividades que você pode fazer e nas vezes que você fez menos do que você gostaria</i></p> <p><i>Se os problemas de saúde afetaram seu trabalho só um pouco, escolha um número baixo.</i></p> <p><i>Escolha um número alto se os problemas de saúde afetaram demais o seu trabalho.</i></p> | | |
| <p>Problemas de saúde não afetaram meu trabalho</p> | <p>_____</p> <p>0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> | <p>Problemas de saúde me impediram completamente de trabalhar</p> <p>()</p> |

20.Avaliação do estado de saúde: Solicitar ao paciente que marque na escala a nota que classifica o seu estado de saúde (O valor 100 significa o melhor estado de saúde e o 0 o pior estado de saúde)



()

| 10. FOLHA ANEXA - INTERNAÇÕES | | | |
|--|---------------------------|---|--------|
| 10.15.2 O senhor ficou internado em: | D. Internação 1 () | (1) Quarto | D. () |
| | E. Internação 2 () | (2) Enfermaria | |
| <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez Se ficou internado mais de 3 vezes, preencher folha anexa</i> | F. Internação 3 () | (3) Unidade de terapia intensiva | E. () |
| | | (4) Unidade semi intensiva | F. () |
| | | (5) Emergência | |
| 10.15.3 Quantos dias o senhor (a) ficou internado? | D. Internação 1: () dias | | D. () |
| | E. Internação 2: () dias | | E. () |
| <i>Se ficou internado na emergência por horas, considerar 1 dia Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> | F. Internação 3: () dias | | F. () |
| | | | |
| 10.15.4 Qual foi o motivo da internação? | D. Internação 1 () | (1) Hiperglicemia com cetoacidose | D. () |
| | E. Internação 2 () | (2) Hiperglicemia sem cetoacidose | |
| <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> | F. Internação 3 () | (3) Hipoglicemia | E. () |
| | | (4) Complicações do diabetes Qual: _____ | F. () |
| | | (5) Outros Qual: _____ | |
| 10.15.5 O senhor acha que houve algum fator desencadeante para sua internação por hiperglicemia? | D. Internação 1 () | (1) Infecção | D. () |
| | E. Internação 2 () | (2) Não houve fator desencadeante | |
| <i>Deixar as demais caselas em branco, se tiver sido internado apenas 1 vez</i> | F. Internação 3 () | (3) Erro da administração de insulina | E. () |
| | | (4) Estresse | F. () |
| | | (5) Outros | |

ANEXO C - Estimativa de ancestralidade genômica individual frente aos clusters inferidos pelo software Structure

| AMOSTRA | AMERÍNDIA | EUROPEIA | AFRICANA | | | | |
|---------|-----------|----------|----------|-------|-----|-----|-----|
| 91307 | 2% | 96% | 1% | 93516 | 15% | 40% | 45% |
| 91321 | 12% | 67% | 21% | 93517 | 3% | 64% | 33% |
| 91322 | 8% | 67% | 25% | 93519 | 2% | 96% | 3% |
| 91323 | 16% | 20% | 64% | 93520 | 11% | 84% | 5% |
| 91324 | 21% | 4% | 76% | 93521 | 3% | 78% | 19% |
| 91325 | 3% | 96% | 1% | 93523 | 3% | 81% | 16% |
| 91326 | 2% | 85% | 12% | 93525 | 5% | 55% | 40% |
| 91417 | 5% | 24% | 71% | 93526 | 3% | 88% | 9% |
| 91418 | 2% | 60% | 38% | 93528 | 5% | 89% | 6% |
| 91419 | 28% | 8% | 64% | 93529 | 2% | 95% | 3% |
| 91420 | 1% | 52% | 47% | 93530 | 20% | 62% | 18% |
| 92133 | 4% | 88% | 8% | 93531 | 29% | 60% | 11% |
| 92146 | 6% | 40% | 54% | 93534 | 4% | 92% | 4% |
| 92147 | 3% | 64% | 33% | 93535 | 27% | 54% | 19% |
| 92158 | 3% | 92% | 5% | 93538 | 5% | 81% | 15% |
| 92159 | 3% | 73% | 24% | 93539 | 15% | 80% | 5% |
| 92164 | 37% | 40% | 23% | 93540 | 3% | 92% | 6% |
| 92165 | 10% | 77% | 13% | 93541 | 14% | 65% | 22% |
| 92167 | 8% | 85% | 7% | 93543 | 8% | 81% | 11% |
| 92168 | 9% | 91% | 1% | 93544 | 3% | 65% | 33% |
| 92190 | 6% | 68% | 27% | 93545 | 3% | 86% | 11% |
| 92470 | 2% | 50% | 48% | 93546 | 13% | 85% | 1% |
| 92471 | 6% | 69% | 26% | 93548 | 27% | 29% | 44% |
| 92472 | 2% | 74% | 24% | 93549 | 48% | 42% | 10% |
| 92473 | 4% | 46% | 50% | 93552 | 4% | 82% | 14% |
| 92474 | 6% | 41% | 53% | 93553 | 3% | 68% | 29% |
| 92475 | 2% | 96% | 1% | 93554 | 36% | 47% | 17% |
| 92486 | 4% | 81% | 16% | 93555 | 2% | 94% | 5% |
| 92487 | 2% | 73% | 25% | 93556 | 2% | 91% | 6% |
| 92488 | 14% | 79% | 7% | 93557 | 13% | 77% | 10% |
| 92489 | 29% | 69% | 2% | 93559 | 5% | 85% | 10% |
| 92490 | 1% | 96% | 3% | 93560 | 8% | 72% | 20% |
| 92492 | 31% | 56% | 13% | 93562 | 7% | 49% | 44% |
| 92493 | 37% | 32% | 31% | 93563 | 7% | 79% | 15% |
| 92494 | 2% | 94% | 3% | 93574 | 2% | 49% | 49% |
| 92495 | 1% | 57% | 42% | 93575 | 21% | 8% | 71% |
| 92497 | 13% | 54% | 33% | 93576 | 12% | 87% | 1% |
| 92498 | 1% | 98% | 1% | 93578 | 2% | 97% | 2% |
| 93584 | 2% | 75% | 24% | 93581 | 12% | 87% | 2% |
| 93586 | 5% | 83% | 12% | 93583 | 1% | 96% | 4% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 93587 | 1% | 99% | 0% | 94341 | 2% | 94% | 4% |
| 93591 | 0% | 99% | 1% | 94342 | 30% | 60% | 10% |
| 93594 | 7% | 80% | 13% | 94343 | 72% | 26% | 2% |
| 93597 | 1% | 96% | 3% | 94344 | 3% | 66% | 31% |
| 93598 | 1% | 99% | 1% | 94345 | 13% | 85% | 2% |
| 93602 | 4% | 82% | 14% | 94346 | 3% | 93% | 4% |
| 93604 | 6% | 93% | 1% | 94347 | 2% | 50% | 49% |
| 93606 | 3% | 3% | 95% | 94350 | 14% | 57% | 29% |
| 93607 | 4% | 87% | 9% | 94353 | 28% | 34% | 38% |
| 93609 | 2% | 97% | 1% | 94354 | 4% | 54% | 42% |
| 93610 | 3% | 96% | 1% | 94356 | 4% | 52% | 43% |
| 93612 | 5% | 93% | 2% | 94357 | 3% | 92% | 5% |
| 93616 | 4% | 92% | 4% | 94360 | 8% | 82% | 10% |
| 94279 | 6% | 72% | 22% | 94361 | 34% | 64% | 2% |
| 94280 | 9% | 67% | 24% | 94362 | 21% | 76% | 3% |
| 94281 | 13% | 66% | 21% | 94363 | 10% | 56% | 34% |
| 94282 | 5% | 39% | 56% | 94364 | 6% | 75% | 19% |
| 94283 | 3% | 81% | 16% | 94365 | 45% | 45% | 9% |
| 94285 | 22% | 70% | 8% | 94366 | 3% | 96% | 2% |
| 94285 | 22% | 69% | 9% | 94367 | 13% | 86% | 1% |
| 94286 | 18% | 51% | 32% | 94368 | 19% | 33% | 48% |
| 94287 | 14% | 41% | 45% | 94369 | 24% | 60% | 16% |
| 94288 | 15% | 68% | 17% | 94370 | 32% | 61% | 7% |
| 94289 | 2% | 36% | 62% | 94371 | 17% | 60% | 23% |
| 94292 | 6% | 22% | 72% | 94372 | 31% | 32% | 37% |
| 94294 | 20% | 44% | 36% | 94373 | 3% | 57% | 41% |
| 94296 | 20% | 54% | 27% | 94374 | 14% | 52% | 34% |
| 94298 | 6% | 79% | 16% | 94376 | 18% | 65% | 16% |
| 94300 | 5% | 58% | 38% | 94377 | 2% | 62% | 36% |
| 94301 | 35% | 61% | 4% | 94378 | 11% | 65% | 24% |
| 94302 | 2% | 61% | 37% | 94379 | 13% | 77% | 10% |
| 94303 | 3% | 96% | 2% | 94380 | 34% | 48% | 18% |
| 94304 | 16% | 68% | 16% | 94381 | 9% | 86% | 5% |
| 94306 | 27% | 60% | 13% | 94382 | 3% | 92% | 5% |
| 94309 | 2% | 78% | 19% | 94383 | 42% | 44% | 13% |
| 94319 | 7% | 86% | 7% | 94384 | 9% | 81% | 10% |
| 94321 | 8% | 62% | 30% | 94385 | 15% | 71% | 14% |
| 94323 | 1% | 76% | 23% | 94386 | 19% | 56% | 25% |
| 94324 | 10% | 69% | 21% | 94387 | 11% | 80% | 9% |
| 94335 | 4% | 93% | 3% | 94389 | 7% | 82% | 11% |
| 94336 | 11% | 74% | 15% | 94390 | 23% | 53% | 25% |
| 94337 | 7% | 73% | 20% | 94391 | 3% | 64% | 33% |
| 94338 | 6% | 64% | 30% | 94392 | 23% | 66% | 11% |
| 94339 | 22% | 68% | 10% | 94393 | 10% | 85% | 4% |

| 94340 | 3% | 94% | 3% | 94394 | 6% | 30% | 65% |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 94395 | 4% | 76% | 20% | 95827 | 4% | 69% | 27% |
| 94397 | 10% | 58% | 33% | 95828 | 38% | 54% | 8% |
| 94398 | 4% | 95% | 1% | 95829 | 2% | 49% | 49% |
| 94399 | 17% | 38% | 45% | 95830 | 1% | 51% | 48% |
| 94400 | 3% | 70% | 27% | 95831 | 18% | 57% | 25% |
| 94401 | 5% | 92% | 2% | 95832 | 5% | 86% | 9% |
| 94402 | 15% | 83% | 3% | 95833 | 6% | 74% | 20% |
| 94403 | 35% | 25% | 40% | 95834 | 3% | 69% | 29% |
| 94404 | 24% | 72% | 5% | 95835 | 3% | 27% | 69% |
| 94405 | 38% | 61% | 2% | 95836 | 3% | 75% | 23% |
| 94406 | 12% | 65% | 24% | 95837 | 3% | 64% | 34% |
| 94407 | 3% | 83% | 15% | 95838 | 3% | 79% | 19% |
| 94408 | 25% | 61% | 14% | 95839 | 7% | 59% | 34% |
| 94409 | 4% | 70% | 26% | 95840 | 8% | 53% | 39% |
| 94546 | 5% | 79% | 16% | 95841 | 2% | 90% | 9% |
| 94547 | 4% | 82% | 14% | 95842 | 3% | 90% | 7% |
| 94578 | 2% | 98% | 1% | 95843 | 2% | 60% | 38% |
| 94579 | 2% | 23% | 75% | 95844 | 5% | 15% | 80% |
| 94580 | 4% | 96% | 1% | 95845 | 8% | 47% | 45% |
| 94581 | 1% | 97% | 3% | 95846 | 4% | 66% | 30% |
| 94582 | 30% | 61% | 9% | 95847 | 40% | 35% | 25% |
| 94583 | 7% | 43% | 50% | 95848 | 2% | 88% | 9% |
| 94584 | 2% | 81% | 17% | 95849 | 2% | 67% | 31% |
| 94586 | 11% | 84% | 5% | 95850 | 5% | 81% | 14% |
| 94588 | 1% | 98% | 2% | 95851 | 31% | 39% | 30% |
| 94590 | 2% | 72% | 26% | 95852 | 9% | 77% | 15% |
| 94591 | 1% | 51% | 48% | 95853 | 27% | 56% | 18% |
| 94592 | 4% | 90% | 6% | 95854 | 9% | 64% | 27% |
| 94593 | 1% | 40% | 59% | 95855 | 36% | 53% | 11% |
| 94594 | 4% | 86% | 11% | 96209 | 9% | 54% | 37% |
| 94595 | 8% | 90% | 1% | 96210 | 1% | 69% | 29% |
| 94597 | 3% | 94% | 4% | 96213 | 28% | 61% | 12% |
| 94598 | 1% | 92% | 7% | 96215 | 15% | 37% | 48% |
| 94599 | 5% | 92% | 3% | 96216 | 2% | 54% | 45% |
| 94601 | 14% | 80% | 6% | 96217 | 5% | 46% | 49% |
| 94602 | 4% | 95% | 1% | 96218 | 7% | 41% | 52% |
| 94603 | 28% | 71% | 1% | 96219 | 3% | 69% | 29% |
| 94604 | 7% | 92% | 1% | 96221 | 10% | 84% | 6% |
| 94606 | 2% | 96% | 2% | 96222 | 5% | 94% | 1% |
| 94608 | 20% | 79% | 1% | 96224 | 6% | 91% | 2% |
| 95816 | 7% | 75% | 19% | 96225 | 20% | 69% | 12% |
| 95821 | 3% | 63% | 34% | 96249 | 62% | 22% | 16% |
| 95823 | 4% | 63% | 34% | 96250 | 28% | 71% | 1% |
| 95825 | 25% | 51% | 25% | 96251 | 18% | 71% | 11% |

| 95826 | 30% | 57% | 12% | 96252 | 2% | 72% | 26% |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 96253 | 54% | 32% | 14% | 96298 | 15% | 61% | 24% |
| 96254 | 3% | 72% | 25% | 96299 | 6% | 87% | 7% |
| 96255 | 19% | 60% | 21% | 96300 | 10% | 85% | 6% |
| 96256 | 1% | 51% | 48% | 96301 | 19% | 78% | 4% |
| 96257 | 34% | 63% | 4% | 96302 | 7% | 83% | 9% |
| 96258 | 8% | 58% | 34% | 96303 | 7% | 90% | 4% |
| 96259 | 4% | 83% | 13% | 96304 | 17% | 72% | 11% |
| 96260 | 1% | 80% | 20% | 96305 | 44% | 22% | 34% |
| 96261 | 31% | 53% | 16% | 96307 | 9% | 82% | 9% |
| 96262 | 11% | 86% | 3% | 96308 | 14% | 76% | 10% |
| 96263 | 7% | 92% | 1% | 96309 | 27% | 60% | 13% |
| 96264 | 70% | 9% | 21% | 96310 | 31% | 34% | 35% |
| 96265 | 1% | 99% | 1% | 96311 | 31% | 41% | 28% |
| 96266 | 1% | 72% | 27% | 96312 | 8% | 71% | 21% |
| 96267 | 45% | 54% | 1% | 96313 | 4% | 86% | 10% |
| 96268 | 14% | 71% | 15% | 96314 | 12% | 60% | 28% |
| 96269 | 21% | 48% | 31% | 96315 | 25% | 62% | 13% |
| 96270 | 1% | 82% | 18% | 96316 | 4% | 82% | 14% |
| 96271 | 47% | 51% | 2% | 96317 | 4% | 72% | 24% |
| 96272 | 2% | 85% | 13% | 96318 | 3% | 80% | 17% |
| 96273 | 4% | 92% | 4% | 96320 | 4% | 62% | 35% |
| 96274 | 7% | 83% | 10% | 96321 | 26% | 70% | 4% |
| 96275 | 2% | 90% | 8% | 96322 | 11% | 80% | 9% |
| 96276 | 8% | 76% | 16% | 96323 | 4% | 76% | 21% |
| 96277 | 20% | 36% | 44% | 96324 | 11% | 77% | 13% |
| 96278 | 2% | 85% | 13% | 96325 | 3% | 73% | 24% |
| 96279 | 16% | 65% | 19% | 96326 | 8% | 81% | 11% |
| 96280 | 8% | 70% | 22% | 96327 | 33% | 49% | 19% |
| 96281 | 8% | 85% | 7% | 96328 | 3% | 90% | 8% |
| 96282 | 5% | 88% | 8% | 96329 | 4% | 84% | 12% |
| 96283 | 14% | 60% | 26% | 96330 | 1% | 97% | 1% |
| 96284 | 6% | 86% | 8% | 96331 | 5% | 87% | 8% |
| 96285 | 37% | 44% | 19% | 96332 | 22% | 61% | 17% |
| 96286 | 4% | 67% | 29% | 96333 | 4% | 91% | 5% |
| 96287 | 49% | 29% | 22% | 96334 | 7% | 88% | 6% |
| 96288 | 27% | 38% | 35% | 96335 | 9% | 55% | 36% |
| 96289 | 6% | 72% | 22% | 96336 | 21% | 53% | 26% |
| 96290 | 4% | 83% | 13% | 96337 | 13% | 47% | 40% |
| 96291 | 21% | 75% | 4% | 96338 | 3% | 12% | 85% |
| 96292 | 16% | 47% | 37% | 96339 | 4% | 62% | 33% |
| 96293 | 38% | 49% | 13% | 96340 | 11% | 85% | 5% |
| 96294 | 17% | 77% | 6% | 96341 | 16% | 63% | 21% |
| 96295 | 11% | 61% | 28% | 96342 | 7% | 83% | 10% |
| 96296 | 2% | 94% | 5% | 96343 | 5% | 81% | 14% |

| 96297 | 40% | 34% | 26% | 96344 | 2% | 52% | 46% |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 96345 | 12% | 67% | 21% | 96399 | 2% | 98% | 1% |
| 96346 | 5% | 72% | 23% | 96400 | 3% | 97% | 1% |
| 96347 | 2% | 55% | 43% | 96401 | 1% | 90% | 9% |
| 96348 | 3% | 55% | 42% | 96402 | 2% | 97% | 1% |
| 96349 | 14% | 47% | 40% | 96403 | 2% | 97% | 1% |
| 96350 | 3% | 46% | 51% | 96404 | 1% | 90% | 10% |
| 96351 | 18% | 58% | 23% | 96405 | 5% | 87% | 8% |
| 96352 | 13% | 64% | 24% | 96406 | 7% | 93% | 1% |
| 96353 | 2% | 94% | 4% | 96407 | 3% | 89% | 8% |
| 96354 | 34% | 47% | 19% | 96408 | 1% | 98% | 1% |
| 96355 | 3% | 73% | 25% | 96409 | 3% | 96% | 1% |
| 96356 | 16% | 60% | 24% | 96410 | 10% | 88% | 2% |
| 96357 | 9% | 29% | 62% | 96411 | 2% | 91% | 6% |
| 96358 | 4% | 72% | 24% | 96412 | 1% | 97% | 2% |
| 96359 | 13% | 63% | 25% | 96413 | 2% | 92% | 6% |
| 96360 | 4% | 51% | 45% | 96414 | 7% | 92% | 1% |
| 96361 | 6% | 81% | 13% | 96415 | 4% | 96% | 1% |
| 96362 | 11% | 54% | 35% | 96416 | 1% | 72% | 27% |
| 96363 | 18% | 62% | 20% | 96417 | 38% | 13% | 49% |
| 96365 | 8% | 78% | 15% | 96418 | 1% | 84% | 16% |
| 96366 | 18% | 73% | 9% | 96420 | 1% | 99% | 1% |
| 96367 | 10% | 81% | 9% | 96422 | 1% | 98% | 1% |
| 96369 | 4% | 78% | 18% | 96423 | 22% | 35% | 44% |
| 96370 | 6% | 88% | 7% | 96424 | 1% | 58% | 41% |
| 96373 | 6% | 90% | 4% | 96425 | 1% | 90% | 9% |
| 96374 | 5% | 92% | 3% | 96426 | 1% | 98% | 1% |
| 96375 | 18% | 51% | 31% | 96427 | 14% | 85% | 1% |
| 96376 | 5% | 90% | 5% | 96428 | 1% | 99% | 0% |
| 96378 | 4% | 52% | 44% | 97074 | 41% | 47% | 12% |
| 96380 | 34% | 28% | 38% | 97853 | 4% | 59% | 37% |
| 96381 | 3% | 95% | 3% | 97857 | 7% | 46% | 47% |
| 96382 | 33% | 61% | 6% | 97859 | 5% | 84% | 11% |
| 96384 | 28% | 45% | 27% | 97862 | 30% | 45% | 24% |
| 96385 | 2% | 75% | 23% | 97863 | 4% | 91% | 6% |
| 96386 | 10% | 88% | 2% | 97864 | 6% | 89% | 5% |
| 96387 | 30% | 31% | 39% | 97865 | 6% | 84% | 11% |
| 96388 | 10% | 80% | 10% | 97866 | 2% | 83% | 14% |
| 96389 | 9% | 69% | 22% | 97867 | 5% | 85% | 10% |
| 96390 | 2% | 86% | 12% | 97868 | 3% | 80% | 17% |
| 96392 | 5% | 65% | 31% | 97869 | 5% | 87% | 9% |
| 96393 | 3% | 97% | 0% | 97870 | 12% | 49% | 39% |
| 96394 | 4% | 88% | 7% | 97871 | 7% | 70% | 23% |
| 96395 | 8% | 79% | 13% | 97872 | 4% | 91% | 5% |
| 96396 | 27% | 65% | 8% | 97873 | 50% | 30% | 21% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 96397 | 1% | 99% | 1% | 97874 | 12% | 67% | 22% |
| 97875 | 3% | 85% | 12% | 97925 | 2% | 55% | 44% |
| 97877 | 18% | 80% | 2% | 97926 | 1% | 72% | 27% |
| 97878 | 21% | 62% | 17% | 97927 | 3% | 96% | 1% |
| 97879 | 4% | 95% | 2% | 97928 | 14% | 61% | 25% |
| 97880 | 8% | 56% | 36% | 97929 | 21% | 37% | 42% |
| 97881 | 22% | 35% | 43% | 97930 | 1% | 2% | 97% |
| 97882 | 43% | 44% | 13% | 97931 | 2% | 87% | 12% |
| 97883 | 5% | 91% | 4% | 97932 | 34% | 26% | 40% |
| 97884 | 42% | 57% | 1% | 97933 | 27% | 59% | 13% |
| 97885 | 3% | 75% | 22% | 97934 | 19% | 5% | 76% |
| 97886 | 3% | 83% | 14% | 97935 | 1% | 84% | 15% |
| 97887 | 3% | 96% | 1% | 97937 | 7% | 72% | 21% |
| 97890 | 7% | 88% | 5% | 97938 | 4% | 95% | 1% |
| 97891 | 4% | 79% | 17% | 97939 | 2% | 3% | 96% |
| 97892 | 13% | 74% | 13% | 97940 | 4% | 66% | 30% |
| 97893 | 5% | 91% | 4% | 97941 | 2% | 65% | 33% |
| 97894 | 8% | 87% | 6% | 97942 | 2% | 56% | 43% |
| 97895 | 12% | 77% | 11% | 97943 | 3% | 65% | 32% |
| 97896 | 1% | 73% | 27% | 97944 | 2% | 54% | 44% |
| 97897 | 15% | 77% | 7% | 97945 | 2% | 93% | 6% |
| 97898 | 2% | 95% | 3% | 97947 | 2% | 84% | 14% |
| 97899 | 1% | 75% | 24% | 97948 | 1% | 34% | 64% |
| 97901 | 1% | 79% | 19% | 97949 | 2% | 63% | 35% |
| 97902 | 37% | 61% | 2% | 97951 | 3% | 43% | 54% |
| 97903 | 21% | 50% | 30% | 97952 | 4% | 25% | 72% |
| 97904 | 2% | 94% | 4% | 97953 | 2% | 74% | 25% |
| 97905 | 3% | 70% | 27% | 97954 | 1% | 36% | 63% |
| 97906 | 2% | 69% | 29% | 97955 | 3% | 62% | 34% |
| 97907 | 3% | 86% | 11% | 97956 | 2% | 70% | 28% |
| 97908 | 1% | 74% | 25% | 97957 | 15% | 5% | 81% |
| 97909 | 13% | 62% | 26% | 97958 | 14% | 38% | 48% |
| 97910 | 2% | 94% | 4% | 97959 | 3% | 45% | 52% |
| 97911 | 15% | 67% | 18% | 97960 | 1% | 74% | 25% |
| 97912 | 5% | 75% | 20% | 97961 | 1% | 37% | 63% |
| 97913 | 31% | 62% | 7% | 97962 | 4% | 64% | 32% |
| 97914 | 2% | 82% | 16% | 97963 | 9% | 54% | 37% |
| 97915 | 14% | 79% | 7% | 97964 | 2% | 52% | 46% |
| 97917 | 30% | 3% | 66% | 97965 | 5% | 70% | 25% |
| 97918 | 10% | 41% | 48% | 97966 | 5% | 33% | 62% |
| 97919 | 53% | 30% | 17% | 97967 | 1% | 83% | 15% |
| 97920 | 17% | 77% | 7% | 97968 | 6% | 92% | 1% |
| 97921 | 13% | 57% | 30% | 97969 | 5% | 50% | 45% |
| 97922 | 6% | 56% | 37% | 97970 | 4% | 74% | 22% |
| 97923 | 4% | 71% | 25% | 97971 | 3% | 40% | 58% |
| 97924 | 3% | 42% | 56% | 97972 | 8% | 48% | 44% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 97973 | 35% | 12% | 54% | 98025 | 22% | 76% | 2% |
| 97975 | 12% | 76% | 12% | 98026 | 8% | 80% | 12% |
| 97976 | 3% | 52% | 45% | 98027 | 20% | 55% | 25% |
| 97977 | 17% | 7% | 76% | 98028 | 2% | 66% | 32% |
| 97979 | 17% | 39% | 44% | 98029 | 29% | 28% | 43% |
| 97980 | 2% | 60% | 37% | 98030 | 4% | 80% | 16% |
| 97981 | 2% | 55% | 43% | 98031 | 1% | 70% | 29% |
| 97982 | 17% | 29% | 54% | 98032 | 33% | 33% | 33% |
| 97983 | 2% | 42% | 56% | 98033 | 10% | 85% | 5% |
| 97984 | 21% | 47% | 31% | 98034 | 25% | 54% | 21% |
| 97985 | 19% | 5% | 77% | 98035 | 2% | 96% | 1% |
| 97986 | 1% | 94% | 5% | 98036 | 13% | 83% | 4% |
| 97987 | 3% | 74% | 23% | 98037 | 36% | 12% | 52% |
| 97988 | 2% | 65% | 33% | 98038 | 15% | 55% | 30% |
| 97989 | 4% | 21% | 75% | 98039 | 2% | 69% | 29% |
| 97990 | 32% | 18% | 50% | 98040 | 8% | 90% | 2% |
| 97991 | 3% | 65% | 33% | 98041 | 42% | 55% | 3% |
| 97992 | 9% | 51% | 40% | 98042 | 6% | 75% | 19% |
| 97993 | 9% | 18% | 73% | 98043 | 14% | 73% | 14% |
| 97994 | 2% | 67% | 31% | 98044 | 32% | 55% | 13% |
| 97995 | 7% | 17% | 77% | 98045 | 10% | 74% | 16% |
| 97996 | 3% | 45% | 53% | 98046 | 9% | 63% | 28% |
| 97997 | 6% | 80% | 14% | 98047 | 3% | 62% | 36% |
| 97998 | 32% | 14% | 54% | 98048 | 5% | 23% | 71% |
| 97999 | 3% | 58% | 40% | 98049 | 3% | 81% | 16% |
| 98000 | 3% | 60% | 37% | 98050 | 3% | 84% | 14% |
| 98001 | 4% | 81% | 15% | 98051 | 2% | 59% | 40% |
| 98002 | 9% | 37% | 54% | 98053 | 9% | 68% | 24% |
| 98003 | 32% | 55% | 13% | 98054 | 28% | 68% | 4% |
| 98005 | 33% | 28% | 38% | 98055 | 32% | 60% | 8% |
| 98006 | 14% | 24% | 62% | 98056 | 14% | 31% | 55% |
| 98007 | 8% | 54% | 38% | 98057 | 11% | 52% | 37% |
| 98009 | 33% | 43% | 24% | 98058 | 16% | 62% | 22% |
| 98010 | 18% | 53% | 29% | 98059 | 14% | 60% | 26% |
| 98011 | 20% | 33% | 47% | 98060 | 1% | 75% | 24% |
| 98012 | 14% | 42% | 44% | 98061 | 3% | 91% | 6% |
| 98013 | 36% | 31% | 33% | 98062 | 11% | 28% | 61% |
| 98015 | 5% | 46% | 48% | 98063 | 2% | 89% | 9% |
| 98016 | 34% | 16% | 50% | 98064 | 3% | 79% | 18% |
| 98017 | 24% | 66% | 10% | 98065 | 7% | 51% | 43% |
| 98020 | 33% | 35% | 32% | 98066 | 3% | 92% | 5% |
| 98021 | 4% | 94% | 2% | 98067 | 3% | 90% | 7% |
| 98022 | 18% | 80% | 2% | 98068 | 5% | 86% | 8% |
| 98023 | 3% | 50% | 47% | 98069 | 38% | 42% | 21% |
| 98024 | 2% | 79% | 19% | 98070 | 25% | 35% | 40% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 98071 | 2% | 64% | 35% | 98120 | 25% | 70% | 5% |
| 98072 | 20% | 42% | 38% | 98121 | 12% | 79% | 9% |
| 98073 | 3% | 89% | 8% | 98122 | 10% | 81% | 9% |
| 98074 | 1% | 89% | 11% | 98123 | 11% | 55% | 34% |
| 98075 | 5% | 93% | 3% | 98124 | 19% | 72% | 9% |
| 98076 | 16% | 82% | 2% | 98125 | 10% | 71% | 20% |
| 98077 | 8% | 89% | 3% | 98126 | 28% | 64% | 8% |
| 98078 | 3% | 77% | 20% | 98127 | 2% | 97% | 1% |
| 98079 | 5% | 53% | 43% | 98128 | 43% | 45% | 12% |
| 98080 | 6% | 81% | 14% | 98129 | 14% | 63% | 23% |
| 98081 | 6% | 59% | 36% | 98130 | 11% | 84% | 5% |
| 98082 | 37% | 51% | 12% | 98131 | 2% | 97% | 1% |
| 98083 | 7% | 72% | 21% | 98132 | 3% | 95% | 2% |
| 98084 | 7% | 90% | 3% | 98133 | 4% | 91% | 5% |
| 98085 | 4% | 60% | 37% | 98134 | 16% | 59% | 25% |
| 98086 | 12% | 64% | 24% | 98135 | 10% | 85% | 5% |
| 98087 | 8% | 72% | 21% | 98136 | 8% | 87% | 5% |
| 98088 | 3% | 58% | 39% | 98137 | 13% | 65% | 22% |
| 98089 | 26% | 59% | 16% | 98138 | 5% | 91% | 4% |
| 98090 | 10% | 45% | 45% | 98139 | 3% | 91% | 6% |
| 98091 | 4% | 86% | 10% | 98140 | 18% | 64% | 17% |
| 98092 | 8% | 44% | 48% | 98141 | 5% | 93% | 2% |
| 98094 | 4% | 50% | 46% | 98142 | 24% | 67% | 10% |
| 98095 | 14% | 83% | 3% | 98145 | 3% | 96% | 1% |
| 98096 | 24% | 26% | 51% | 98146 | 8% | 75% | 18% |
| 98099 | 3% | 36% | 61% | 98147 | 8% | 85% | 7% |
| 98100 | 7% | 89% | 4% | 98148 | 8% | 85% | 7% |
| 98101 | 3% | 95% | 2% | 98149 | 9% | 75% | 16% |
| 98102 | 8% | 87% | 6% | 98150 | 11% | 71% | 18% |
| 98103 | 65% | 31% | 4% | 98151 | 26% | 68% | 6% |
| 98104 | 8% | 74% | 18% | 98152 | 5% | 91% | 5% |
| 98106 | 9% | 53% | 38% | 98154 | 19% | 66% | 15% |
| 98107 | 31% | 24% | 46% | 98155 | 1% | 76% | 23% |
| 98108 | 12% | 13% | 75% | 98156 | 6% | 56% | 38% |
| 98109 | 18% | 50% | 32% | 98157 | 6% | 93% | 1% |
| 98110 | 26% | 71% | 3% | 98158 | 1% | 80% | 20% |
| 98111 | 29% | 42% | 29% | 98159 | 1% | 99% | 1% |
| 98112 | 9% | 77% | 14% | 98160 | 2% | 75% | 23% |
| 98113 | 12% | 53% | 35% | 98161 | 5% | 93% | 2% |
| 98114 | 21% | 68% | 11% | 98162 | 0% | 96% | 4% |
| 98115 | 19% | 75% | 6% | 98163 | 7% | 92% | 1% |
| 98116 | 3% | 95% | 3% | 98164 | 1% | 99% | 0% |
| 98117 | 7% | 83% | 11% | 98165 | 14% | 69% | 17% |
| 98118 | 6% | 80% | 14% | 98168 | 1% | 88% | 12% |
| 98119 | 12% | 76% | 12% | 98169 | 4% | 90% | 6% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 98170 | 1% | 99% | 0% | 98240 | 23% | 73% | 3% |
| 98171 | 1% | 69% | 30% | 98241 | 2% | 74% | 24% |
| 98172 | 1% | 99% | 1% | 98242 | 18% | 70% | 12% |
| 98173 | 38% | 60% | 2% | 98243 | 39% | 56% | 5% |
| 98174 | 10% | 78% | 12% | 98244 | 7% | 64% | 29% |
| 98175 | 1% | 99% | 0% | 98245 | 20% | 46% | 34% |
| 98177 | 37% | 52% | 12% | 98246 | 26% | 55% | 19% |
| 98178 | 26% | 74% | 0% | 98247 | 19% | 71% | 10% |
| 98179 | 16% | 81% | 2% | 98248 | 15% | 78% | 7% |
| 98180 | 9% | 90% | 1% | 98249 | 36% | 46% | 19% |
| 98181 | 23% | 77% | 1% | 98250 | 10% | 67% | 23% |
| 98182 | 5% | 94% | 2% | 98251 | 14% | 71% | 15% |
| 98183 | 8% | 92% | 0% | 98252 | 31% | 59% | 10% |
| 98184 | 2% | 93% | 5% | 98253 | 17% | 49% | 33% |
| 98185 | 13% | 83% | 4% | 98254 | 18% | 75% | 8% |
| 98186 | 1% | 83% | 17% | 98255 | 38% | 27% | 36% |
| 98187 | 1% | 64% | 35% | 98256 | 21% | 52% | 28% |
| 98188 | 22% | 72% | 6% | 98257 | 6% | 83% | 12% |
| 98190 | 0% | 99% | 1% | 98258 | 11% | 69% | 20% |
| 98191 | 1% | 98% | 1% | 98259 | 25% | 67% | 8% |
| 98192 | 1% | 98% | 2% | 98260 | 3% | 96% | 1% |
| 98193 | 2% | 45% | 53% | 98261 | 5% | 69% | 26% |
| 98194 | 5% | 93% | 1% | 98262 | 4% | 52% | 44% |
| 98195 | 4% | 82% | 14% | 98263 | 6% | 83% | 12% |
| 98196 | 4% | 86% | 10% | 98264 | 28% | 46% | 25% |
| 98197 | 4% | 96% | 1% | 98265 | 10% | 68% | 22% |
| 98201 | 0% | 79% | 21% | 98266 | 27% | 68% | 5% |
| 98202 | 18% | 75% | 8% | 98267 | 9% | 41% | 50% |
| 98206 | 20% | 79% | 1% | 98268 | 9% | 85% | 6% |
| 98207 | 5% | 77% | 19% | 98269 | 3% | 55% | 42% |
| 98209 | 9% | 90% | 1% | 98270 | 30% | 61% | 9% |
| 98224 | 7% | 75% | 18% | 98271 | 14% | 41% | 45% |
| 98225 | 12% | 82% | 6% | 98272 | 5% | 76% | 20% |
| 98227 | 16% | 56% | 28% | 98273 | 13% | 63% | 24% |
| 98228 | 2% | 56% | 41% | 98274 | 7% | 78% | 14% |
| 98229 | 2% | 87% | 11% | 98275 | 1% | 58% | 41% |
| 98230 | 12% | 7% | 81% | 98276 | 32% | 61% | 7% |
| 98231 | 8% | 61% | 31% | 98277 | 36% | 46% | 18% |
| 98233 | 36% | 44% | 20% | 98278 | 14% | 72% | 14% |
| 98234 | 64% | 28% | 8% | 98279 | 29% | 62% | 9% |
| 98235 | 3% | 77% | 20% | 98280 | 4% | 60% | 36% |
| 98236 | 2% | 47% | 52% | 98281 | 10% | 80% | 11% |
| 98237 | 5% | 86% | 9% | 98282 | 2% | 50% | 49% |
| 98238 | 23% | 54% | 23% | 98283 | 11% | 74% | 15% |
| 98239 | 49% | 41% | 9% | 98284 | 14% | 57% | 29% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 98285 | 17% | 52% | 31% | 98485 | 4% | 77% | 19% |
| 98286 | 8% | 61% | 31% | 98487 | 2% | 65% | 33% |
| 98287 | 15% | 53% | 32% | 98489 | 7% | 80% | 13% |
| 98288 | 18% | 80% | 2% | 98491 | 16% | 61% | 24% |
| 98289 | 4% | 53% | 43% | 98492 | 10% | 65% | 25% |
| 98290 | 17% | 42% | 41% | 98493 | 16% | 12% | 73% |
| 98291 | 12% | 73% | 16% | 98494 | 50% | 43% | 7% |
| 98292 | 3% | 84% | 13% | 98496 | 1% | 42% | 57% |
| 98293 | 8% | 42% | 50% | 98497 | 24% | 31% | 46% |
| 98294 | 17% | 72% | 10% | 98498 | 5% | 53% | 42% |
| 98295 | 4% | 74% | 22% | 98499 | 20% | 66% | 14% |
| 98296 | 1% | 83% | 16% | 98500 | 2% | 32% | 66% |
| 98297 | 8% | 90% | 2% | 98501 | 15% | 76% | 9% |
| 98298 | 3% | 86% | 11% | 98502 | 9% | 76% | 15% |
| 98299 | 2% | 81% | 17% | 98503 | 3% | 59% | 38% |
| 98300 | 39% | 27% | 34% | 98504 | 4% | 47% | 50% |
| 98301 | 8% | 55% | 37% | 98505 | 4% | 41% | 55% |
| 98302 | 14% | 85% | 1% | 98506 | 3% | 30% | 68% |
| 98303 | 1% | 99% | 1% | 98508 | 14% | 58% | 28% |
| 98305 | 5% | 94% | 1% | 98509 | 6% | 90% | 4% |
| 98306 | 2% | 98% | 1% | 98510 | 41% | 41% | 18% |
| 98307 | 1% | 99% | 0% | 98511 | 3% | 26% | 72% |
| 98308 | 0% | 80% | 19% | 98512 | 6% | 72% | 22% |
| 98309 | 17% | 78% | 5% | 98513 | 2% | 22% | 76% |
| 98310 | 2% | 96% | 1% | 98514 | 2% | 42% | 56% |
| 98311 | 1% | 98% | 1% | 98515 | 8% | 53% | 40% |
| 98312 | 38% | 54% | 8% | 98516 | 4% | 55% | 41% |
| 98313 | 5% | 79% | 16% | 98517 | 2% | 82% | 15% |
| 98314 | 2% | 98% | 1% | 98518 | 4% | 85% | 11% |
| 98315 | 7% | 89% | 4% | 98519 | 2% | 40% | 58% |
| 98316 | 30% | 63% | 7% | 98520 | 33% | 49% | 18% |
| 98317 | 1% | 86% | 13% | 98521 | 2% | 32% | 66% |
| 98318 | 1% | 98% | 1% | 98522 | 19% | 64% | 17% |
| 98319 | 1% | 98% | 1% | 98523 | 2% | 9% | 88% |
| 98320 | 1% | 98% | 1% | 98524 | 2% | 75% | 23% |
| 98321 | 11% | 87% | 2% | 98525 | 5% | 49% | 46% |
| 98322 | 3% | 45% | 53% | 98526 | 2% | 32% | 67% |
| 98323 | 1% | 66% | 32% | 98527 | 3% | 64% | 33% |
| 98324 | 26% | 73% | 1% | 98528 | 20% | 37% | 43% |
| 98325 | 3% | 28% | 69% | 98529 | 2% | 91% | 7% |
| 98326 | 4% | 60% | 36% | 99355 | 11% | 85% | 3% |
| 98327 | 5% | 93% | 1% | 99357 | 4% | 93% | 3% |
| 98328 | 4% | 54% | 43% | 99359 | 23% | 46% | 31% |
| 98329 | 2% | 66% | 32% | 99360 | 6% | 90% | 4% |
| 98484 | 12% | 62% | 27% | 99361 | 6% | 65% | 29% |

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| 99362 | 2% | 85% | 14% | 99869 | 7% | 87% | 7% |
| 99363 | 10% | 68% | 22% | 99870 | 25% | 50% | 25% |
| 99364 | 16% | 66% | 18% | 99871 | 26% | 59% | 15% |
| 99365 | 5% | 33% | 62% | 99872 | 3% | 94% | 3% |
| 99366 | 9% | 87% | 4% | 99873 | 28% | 51% | 21% |
| 99368 | 14% | 74% | 12% | 99874 | 4% | 89% | 7% |
| 99369 | 3% | 51% | 46% | 99875 | 32% | 40% | 28% |
| 99370 | 16% | 64% | 20% | 99876 | 35% | 45% | 20% |
| 99371 | 5% | 92% | 2% | 99877 | 6% | 68% | 26% |
| 99374 | 8% | 89% | 3% | 99878 | 18% | 70% | 13% |
| 99375 | 40% | 39% | 22% | 99879 | 8% | 72% | 20% |
| 99399 | 8% | 78% | 14% | 99880 | 17% | 78% | 5% |
| 99401 | 3% | 65% | 33% | 99881 | 15% | 68% | 18% |
| 99402 | 18% | 75% | 7% | 99882 | 9% | 63% | 27% |
| 99404 | 2% | 61% | 37% | 99883 | 6% | 66% | 29% |
| 99837 | 1% | 88% | 11% | 99884 | 7% | 71% | 22% |
| 99839 | 14% | 24% | 62% | 99885 | 2% | 96% | 2% |
| 99840 | 5% | 84% | 12% | 99886 | 9% | 34% | 57% |
| 99841 | 5% | 59% | 36% | 99887 | 19% | 80% | 1% |
| 99843 | 12% | 82% | 6% | 99888 | 26% | 61% | 13% |
| 99844 | 6% | 37% | 58% | 99889 | 24% | 65% | 12% |
| 99845 | 9% | 67% | 24% | 99890 | 4% | 57% | 39% |
| 99846 | 8% | 89% | 3% | 99891 | 30% | 67% | 3% |
| 99847 | 3% | 19% | 77% | 99892 | 1% | 96% | 3% |
| 99848 | 28% | 63% | 9% | 99893 | 12% | 86% | 2% |
| 99849 | 11% | 87% | 2% | 99895 | 1% | 86% | 13% |
| 99850 | 16% | 56% | 28% | 99896 | 11% | 59% | 30% |
| 99851 | 6% | 81% | 13% | 99897 | 18% | 74% | 8% |
| 99852 | 9% | 17% | 74% | 99898 | 17% | 63% | 20% |
| 99853 | 4% | 84% | 13% | 99899 | 6% | 72% | 22% |
| 99854 | 29% | 52% | 20% | 99900 | 14% | 62% | 25% |
| 99855 | 1% | 80% | 19% | 99901 | 19% | 74% | 7% |
| 99856 | 15% | 52% | 33% | 99902 | 10% | 68% | 23% |
| 99857 | 4% | 91% | 5% | 99903 | 3% | 57% | 40% |
| 99858 | 7% | 25% | 68% | 99904 | 35% | 23% | 42% |
| 99859 | 3% | 31% | 66% | 99905 | 5% | 76% | 19% |
| 99860 | 1% | 84% | 15% | 99906 | 15% | 74% | 11% |
| 99861 | 15% | 81% | 4% | | | | |
| 99862 | 13% | 46% | 41% | | | | |
| 99863 | 3% | 82% | 15% | | | | |
| 99864 | 39% | 54% | 8% | | | | |
| 99865 | 8% | 65% | 27% | | | | |
| 99866 | 14% | 55% | 31% | | | | |
| 99867 | 9% | 76% | 15% | | | | |
| 99868 | 20% | 61% | 19% | | | | |

ANEXO D - Matriz de distância genética com valores de FST e P

| Populações | D_RJ | D_SP | D_RS | D_DF | D_CE | D_BA | D_PA | D_PR | AM_SANTA | AM | PE | AL | MS | TERENA | MG | ES | RJ | SP | PR | SC | RS | HGDPAFRI | HGDPEURO | HGDPAIMER | |
|------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|----------|---------|--------|---------|---------|----------|----------|----------|-----------|--|
| D_RJ | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_SP | 0.0052 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_RS | 0.00184 | 0.0278+0.0013 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_DF | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_CE | 0.0847+0.029 | 0.0127+0.0012 | 0.0267+0.0006 | 0.02736 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_BA | 0.0393 | 0.0393 | 0.0471 | 0.1625 | 0.0471 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_PA | 0.0082+0.009 | 0.0082+0.009 | 0.0244 | 0.1192 | 0.0244 | 0.0244 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D_PR | 0.1034+0.003 | 0.6402+0.004 | 0.0038+0.0004 | 0.01277+0.0010 | 0.01277 | 0.01277 | 0.01277 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| AM_SANTA | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| AM | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| PE | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| AL | 0.0030+0.002 | 0.0079+0.003 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| MS | 0.22859+0.043 | 0.0079+0.003 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| TERENA | 0.7345+0.004 | 0.0059+0.0002 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| MG | 0.7345+0.004 | 0.0059+0.0002 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| ES | 0.0374+0.019 | 0.0091+0.0010 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| RJ | 0.0374+0.019 | 0.0091+0.0010 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| SP | 0.2551+0.045 | 0.1417+0.035 | 0.0126+0.0013 | 0.6558+0.004 | 0.0209+0.0015 | 0.0209 | 0.0209 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| PR | 0.1672+0.033 | 0.0056+0.003 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| SC | 0.0644+0.008 | 0.6031+0.049 | 0.7484+0.038 | 0.0405+0.0022 | 0.17761+0.0038 | 0.0405 | 0.0405 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| RS | 0.0644+0.008 | 0.6031+0.049 | 0.7484+0.038 | 0.0405+0.0022 | 0.17761+0.0038 | 0.0405 | 0.0405 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| HGDPAFRI | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| HGDPEURO | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |
| HGDPAIMER | 0.0079+0.003 | 0.0137+0.0011 | 0.0055 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.02736 | 0.00829 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.01022 | 0.13761 | 0.0442 | -0.00177 | 0.02068 | 0.0998 | -0.0014 | 0.00100 | -0.00148 | 0.3094 | 0.01032 | 0.2466 | |