

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAFAELLA SOUSA FERRAZ

**ASSOCIAÇÃO DE GENES HLA COM DIABETES MELLITUS TIPO 2**

São Luís

2018

RAFAELLA SOUSA FERRAZ

**ASSOCIAÇÃO DE GENES HLA COM DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade

São Luís

2018

Sousa Ferraz, Rafaella.

ASSOCIAÇÃO DE GENES HLA COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 /  
Rafaella Sousa Ferraz. - 2018.

73 f.

Orientador(a): Marcelo Souza de Andrade.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Diabetes Mellitus tipo 2. 2. Genes HLA. 3.  
Suscetibilidade. I. Souza de Andrade, Marcelo. II.  
Título.

RAFAELLA SOUSA FERRAZ

**ASSOCIAÇÃO DE GENES HLA COM DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Aprovada em 05 de julho de 2018

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Selma do Nascimento Silva  
Universidade Federal do Maranhão

*A Deus.*

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Jesus, meu melhor amigo, por me fortalecer todos os dias e me confortar nos momentos difíceis.

Aos meus pais Elizabete Ferraz e Vilson Ferraz, por todo incentivo e caminharem ao meu lado.

À minha irmã Lanna Ferraz, que é como uma segunda mãe, sempre me apoia e torce por mim.

Aos meus amigos Karen Passos, Daniele Franco, Giuliana Leão e Lukas Allayn, obrigada por cada momento de descontração, pela paciência e palavras de encorajamento.

Ao Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade que me concedeu a oportunidade de trabalhar com genética, por incentivar meu crescimento e excelente orientação.

Ao HEMOMAR, pela parceria e apoio na realização do projeto.

À Prof. Dr<sup>a</sup>. Selma Silva, pela ajuda com o exame bioquímico da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Sílvio Monteiro, pela ajuda na parte estatística.

À Leila Silveira, Silvia Gaspar, Gizele Alves e Karina Torres pela ajuda com as coletas.

A todos do Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade com quem pude aprender e ganhar experiência profissional.

A todos os Doadores Voluntários de Medula Óssea que aceitaram participar da pesquisa. Sem eles a mesma não seria possível.

A todos os professores que contribuíram para minha formação e sempre se disponibilizaram em ajudar no que precisei.

À minha turma da biologia 2014.1, pelo companheirismo e apoio.

Enfim, obrigada a todos!

E tudo quanto fizerdes, fazei-o de todo o coração [...]

Colossenses 3:23

## RESUMO

Diabetes Mellitus tipo 2 é a apresentação mais comum de diabetes. A doença é considerada multifatorial, pois ocorre devido a fatores genéticos e ambientais. O histórico familiar e a obesidade são os fatores de maior risco para esta patologia. Alguns trabalhos têm relacionado essa apresentação do Diabetes Mellitus com os Antígenos Leucocitários Humanos (HLA), conjunto de genes altamente polimórficos que codifica moléculas do complexo principal de Histocompatibilidade. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar associação de alelos HLA em indivíduos com histórico familiar de Diabetes Mellitus Tipo 2 dentro da população de Doadores Voluntários de Medula Óssea em São Luís. Para isso, foram amostrados 274 indivíduos Doadores Voluntários de Medula Óssea, dentre os quais 91 constituíram o grupo dos sem histórico familiar de diabetes tipo 2 e 183 constituíram o grupo com histórico familiar de DM2. Todos os indivíduos foram submetidos ao exame de hemoglobina glicada, extração do DNA e tipificação dos genes HLA por PCR-SSOP. Neste estudo foram encontradas diferenças significativas na frequência dos alelos HLA-B\*27 e HLA-B\*58 no grupo sem histórico familiar de DM2 quando comparado com o outro grupo. Não foi observada relação de suscetibilidade de desenvolvimento de diabetes tipo 2 na população estudada. Portanto, faz-se necessário ampliar estudos com tamanho amostral maior e com populações miscigenadas para que a relação entre HLA e DM2 seja melhor representada.

**Palavras chave:** Diabetes Mellitus tipo 2; Genes HLA; Suscetibilidade.



## ABSTRACT

Type 2 Diabetes Mellitus is the most common presentation of diabetes. The disease is considered multifactorial because it occurs due to genetic and environmental factors. Family history and obesity are the highest risk factors for the disease. Papers have linked this presentation of Diabetes Mellitus with Human Leukocyte Antigens (HLA), a highly polymorphic set of genes encoding the major Histocompatibility complex molecules. Thus, the objective of this study was to verify the association of HLA alleles in individuals with a family history of Type 2 Diabetes Mellitus within the population of Bone Marrow Voluntary Donors in São Luís. For this purpose, 274 volunteer Bone Marrow Donors individuals, in which 91 were the group with no family history of type 2 diabetes and 183 were the group with a family history of DM2. All subjects underwent glycated hemoglobin testing, DNA extraction and HLA gene typing by PCR-SSOP. In this study we found significant differences in the frequency of HLA-B \* 27 and HLA-B \* 58 alleles in the group with no family history of DM2 when compared to the other group. No relationship of susceptibility to type 2 diabetes was observed in the study population. Therefore, it is necessary to expand studies with larger sample size and mixed populations so that the relationship between HLA and DM2 is better represented.

**Keywords:** Type 2 Diabetes Mellitus; HLA genes; Susceptibility

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapeamento dos genes HLA no cromossomo 6 humano. ....	30
<b>Figura 2 -</b> Estrutura da molécula de HLA classe I (esquerda) e classe II (direita).....	31
<b>Figura 3 -</b> Frequência de indivíduos com hemoglobina glicada alterada. ....	42
<b>Figura 4 -</b> Box plot de hemoglobina glicada entre indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2. ....	42
<b>Figura 5 -</b> Distribuição alélica em porcentagem do locus HLA-A dentro do grupo de indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.....	43
<b>Figura 6 -</b> Distribuição alélica em porcentagem do locus HLA-B dentro do grupo de indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.....	46
<b>Figura 7 -</b> Distribuição alélica em porcentagem do locus HLA-DRB1 dentro do grupo de indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.....	47
<b>Figura 8 -</b> Rede gênica de interação entre genes HLA e demais genes já descritos na literatura associados a Diabetes Mellitus tipo 2. Rede gerada pelo GeneMANIA® e visualizado pelo Cytoscape 3.6.0. ....	50

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Polimorfismos gênicos associados a Diabetes Mellitus tipo 2 em diferentes populações/etnia. ....	27
--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores de referência para o diagnóstico de diabetes em diferentes metodologias. .....	24
<b>Tabela 2</b> - Perfil epidemiológico dos doadores voluntários de medula óssea (DVMOs) sem histórico familiar de Diabetes tipo 2 e com histórico familiar. ....	41
<b>Tabela 3</b> - Frequência e valor de P dos alelos HLA-A dentro do grupo de indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar de DM2.....	44
<b>Tabela 4</b> - Frequência e valor de P dos alelos HLA-B dentro do grupo de indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar de DM2.....	45
<b>Tabela 5</b> - Frequência e valor de P dos alelos HLA-DRB1 dentro do grupo de indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar de DM2.....	47
<b>Tabela 6</b> - Valor de P para análises de tipificação feitas entre indivíduos que possuem hemoglobina alterada e indivíduos com hemoglobina normal.....	48

## **LISTA DE APÊNDICES**

<b>APÊNDICE A</b> - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).....	66
<b>APÊNDICE B</b> - Questionário.....	70

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>ANEXO A</b> - Declaração de viabilidade do Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade (LEGH) .....	72
<b>ANEXO B</b> - Termo de compromisso e responsabilidade do pesquisador e autorização do HEMOMAR .....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ADA</b>	Associação Americana de Diabetes
<b>ADP</b>	Adenosina difosfato
<b>Anti-GAD</b>	Autoanticorpos antidescarboxilase do ácido glutâmico
<b>APC</b>	Células apresentadoras de antígeno
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>CLIP</b>	Peptídeo de cadeia invariante associada a classe II
<b>CPH</b>	Complexo principal de histocompatibilidade
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>DM1</b>	Diabetes Mellitus tipo 1
<b>DM2</b>	Diabetes Mellitus tipo 2
<b>EDTA</b>	Acido etileno diamino tetracético
<b>GIP</b>	Peptídeo inibidor gástrico
<b>GLP1</b>	Peptídeo semelhante a glucagon 1
<b>GLUT4</b>	Transportador de glicose tipo 4
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina glicada
<b>HLA</b>	Antígeno Leucocitário Humano
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corporal
<b>INTERPRO</b>	Banco de dados de proteína
<b>IRS-1</b>	Substrato 1 do receptor de insulina
<b>KATP</b>	Canal de potássio dependente de ATP
<b>LT</b>	Linfotoxina
<b>LT-B</b>	Linfotoxina Beta
<b>mRNA</b>	RNA mensageiro
<b>NEFA</b>	Ácidos graxos não esterificados
<b>NMDP</b>	National Marrow Donor Program
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PP</b>	Polipeptídeo pancreático

<b>PSORS1C1</b>	Gene candidato a suscetibilidade a psoríase
<b>RE</b>	Retículo endoplasmático
<b>SBD</b>	Sociedade Brasileira de Diabetes
<b>SCAR</b>	Reação adversa cutânea severa
<b>SpA</b>	Espondiloartrites
<b>SUR 1</b>	Receptor de sulfoniluréia
<b>TAP</b>	Transportador associado ao processamento antigênico
<b>TNF</b>	Fator de necrose tumoral
<b>UCP</b>	Proteínas desacopladoras mitocondriais
<b>WNT</b>	Via de sinalização baseada na proteína WNT



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	18
1.1.	<b>Diabetes Mellitus</b>	18
1.2.	<b>Diabetes Mellitus Tipo 2</b>	19
1.2.1	Fisiopatologia	19
1.2.2	Resistência insulínica	20
1.2.3	Células $\beta$ em DM2	21
1.2.4	Fatores de risco, diagnóstico e tratamento de DM2	22
1.3.	<b>Genes relacionados com suscetibilidade e resistência para Diabetes Mellitus Tipo 2 fora do HLA</b>	24
1.4.	<b>Antígeno Leucocitário Humano (<i>Human leucocyte antigen – HLA</i>)</b>	29
1.5.	<b>Relação entre Diabetes Mellitus Tipo 2 e Antígeno Leucocitário Humano</b>	33
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	36
2.1	Objetivo geral	36
2.2	Objetivos específicos	36
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	37
3.1	Local de realização	37
3.2	População de estudo, critério de inclusão e exclusão	37
3.3	Coleta de amostras	37
3.4	Diagnóstico dos indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2	38
3.5	Extração e purificação do DNA genômico	38
3.6	Tipificação dos genes HLA classe I e classe II por PCR-SSOP	38
3.7	Análise Estatística	39
3.8	Considerações éticas	39
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	40
4.1	Perfil epidemiológico da amostra	40
4.2	Frequência alélica HLA de indivíduos sem histórico familiar de diabetes tipo 2 e com histórico familiar de diabetes tipo 2	43
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	49
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	54
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	55
	<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b>	56
	<b>APÊNCIDES</b>	66
	APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	66

<b>APÊNDICE B - Questionário</b> .....	70
<b>ANEXOS</b> .....	72
<b>ANEXO A - Declaração de viabilidade do Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade (LEGH)</b> .....	72
<b>ANEXO B - Termo de compromisso e responsabilidade do pesquisador e autorização do HEMOMAR</b> .....	73

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus é um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia, resultante de falhas na ação da insulina, na sua secreção ou em ambas (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). Até o ano de 2015, a população mundial com diabetes compreendia cerca de 415 milhões de pessoas e o estimado para 2040 é que este número chegue a 642 milhões (OGURTSOVA et al., 2017). No *rank*, o Brasil está em quarto lugar como país com maior número de diabéticos, sendo até 2015 cerca de 14,3 milhões (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

Segundo a Associação Americana de Diabetes e Organização Mundial de Saúde, existem algumas formas clínicas desta patologia: Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1), Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), Diabetes Mellitus gestacional e outros tipos específicos de Diabetes Mellitus (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Há ainda duas categorias vistas como pré diabetes que não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de Diabetes, sendo elas: glicemia de jejum alterada e tolerância à glicose diminuída (SBD, 2016).

Diabetes tipo 1 acomete 5 a 10% dos casos de diabetes e é caracterizada pela deficiência da produção de insulina resultante da destruição das células beta (SBD, 2016). Diabetes Mellitus tipo 2 é a apresentação mais comum do diabetes, compreendendo 90 a 95% dos casos (DEFRONZO et al., 2015) e é caracterizada por defeitos na ação e secreção da insulina (SBD, 2016).

Diabetes gestacional corresponde a qualquer intolerância à glicose durante a gravidez e os demais casos de diabetes estão relacionados a apresentações clínicas que incluem defeitos genéticos na função da célula beta, endocrinopatias, doenças do pâncreas exócrinos, formas incomuns de DM autoimune, entre outras (GROSS et al., 2002).

## 1.2. Diabetes Mellitus Tipo 2

### 1.2.1 Fisiopatologia

Diabetes Mellitus tipo 2 é a apresentação mais comum do diabetes. É caracterizada por resistência insulínica e progressiva deficiência na secreção de insulina por células  $\beta$  pancreáticas (DEFRONZO et al., 2015).

Em um indivíduo saudável, após uma refeição, ocorre o aumento da concentração de glicose na corrente sanguínea. Em resposta a esse sinal de abundância de combustível metabólico alguns mecanismos de homeostasia são disparados, entre eles, a principal é a secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas. Que por sua vez agirá estimulando a captura de glicose pelo músculo e tecido adiposo e inibindo a síntese de glicose no fígado (CHRISTOPHER, 2008).

No músculo e no tecido adiposo a captura de glicose é realizada por um transportador sensível a insulina, conhecido como GLUT4 (Transportador de glicose tipo 4). Na ausência de insulina, esse receptor encontra-se no interior de vesículas intracelulares e estruturas tubulares chamadas de vesículas de armazenamento GLUT4. Quando há a presença de insulina, essas vesículas fundem-se com a membrana plasmática expondo os transportadores na superfície celular e permitem, assim, a entrada de glicose no tecido adiposo e muscular e, conseqüentemente, possibilita a síntese de triacilgliceróis e glicogênio (BRYANT; GOVERS; JAMES, 2002).

No fígado, a insulina liga-se diretamente ao seu receptor nos hepatócitos, provocando a inatividade da fosforilase-cinase (redução da taxa de glicogenólise) e atividade de glicogênio-sintase (promoção da síntese de glicogênio), além de inibir a transcrição de genes que codificam enzimas da gliconeogênese e estimulam a lipogênese (LIN; ACCILI, 2011).

Quando o indivíduo apresenta resistência insulínica, ocorre uma desproporcionalidade da ação da insulina em relação a sua concentração sanguínea, tornando-se este um dos fatores que surge nos momentos iniciais da Diabetes tipo 2 (KOHEY, 2010).

Inicialmente a glicose não é captada corretamente e sucede um quadro de hiperglicemia que, por sua vez, induz as células  $\beta$  pancreáticas a aumentar sua produção de insulina. Os níveis basais elevados de insulina incapacitam a célula de responder a elevação adicional de glicose

sanguínea, desencadeia a produção aumentada de glicose hepática basal, a captação prejudicada de glicose pelos músculos, níveis aumentados de ácidos graxos livres e uma resistência das células  $\beta$  aos seus principais estimuladores para produção de insulina como o GLP1 (peptídeo 1 semelhante ao glucagon) e GIP (polipeptídeo gástrico inibitório). Proporcionando, assim, uma progressiva falha na funcionalidade das células  $\beta$ . (DEFRONZO et al., 2015).

### 1.2.2 Resistência insulínica

A integração da homeostasia da glicose é mantida por um feedback que se baseia na conversa entre células  $\beta$  e a sensibilidade dos tecidos a insulina. As células  $\beta$  são estimuladas a produzir insulina e essa por sua vez auxilia a captação de glicose. Enquanto isso, os tecidos retornam um sinal para células da ilhota a respeito da sua necessidade de insulina (KAHN; COOPER; DEL PRATO, 2014).

Quando a resistência insulínica está presente, as células  $\beta$  aumentam a produção de insulina a fim de manter a tolerância normal a glicose. Porém, essa condição, combinada com a função reduzida de células  $\beta$ , promove o aumento plasmático da glicose e, conseqüentemente, suscita no quadro diabético (KAHN; COOPER; DEL PRATO, 2014). A resistência insulínica constitui, portanto, uma condição na qual a insulina secretada não exerce ação proporcional à concentração de glicose no sangue (KOHEY, 2010).

A resistência à insulina está relacionada a fatores genéticos, tais como genes do receptor de insulina, polimorfismo do gene substrato do receptor de insulina (IRS-1), genes do receptor  $\beta_3$  adrenérgico e gene do desacoplamento da proteína (UCP), a fatores ambientais e hormonais (KOHEY, 2010).

A glicolipototoxicidade e mediadores inflamatórios, por exemplo, estão envolvidos no mecanismo de insuficiência na secreção e sinalização da insulina. Além destes, bioativos derivados dos adipócitos também estão associados, como TNF, leptina, resistina e ácido graxo livre que atuam aumentando a resistência insulínica e adiponectina que atua na redução da resistência (KOHEY, 2010).

O envelhecimento, falta de exercícios, obesidade e distribuição da gordura corporal também são fatores associados a resistência insulínica. Há alguns estudos que comprovam que indivíduos obesos com grande quantidade de gordura visceral sofrem maiores conseqüências

metabólicas do que indivíduos com maior acúmulo subcutâneo. E que o acúmulo de gordura abdominal eleva os níveis de NEFA (ácidos graxos não esterificados) e, por conseguinte, desencadeia a redução da sensibilidade insulínica no fígado e músculo (SCHEEN, 2003).

Uma das evidências de resistência no fígado é a ocorrência de gliconeogênese - produção de glicose a partir de substratos não-glicídicos - mesmo o indivíduo estando em estado de hiperinsulinemia (ZACCARDI et al., 2015).

A resistência insulínica não acomete apenas o fígado e o músculo. Mas pode estar presente no tecido adiposo, renal, trato gastrointestinal, vascular, cérebro e células  $\beta$  pancreáticas (DEFRONZO et al., 2015).

### 1.2.3 Células $\beta$ em DM2

O pâncreas é constituído por uma estrutura responsável pela homeostase da glicose, chamada ilhotas de Langerhans. As ilhotas são constituídas por 70% de células  $\beta$  responsáveis pela produção de insulina, 20% de células  $\alpha$  produtoras de glucagon, menos de 10% de células  $\delta$  produtoras de somatostatina e 1% de células produtoras de polipeptídeos pancreáticos (PP) (CABRERA et al., 2006).

A regulação de produção de insulina é realizada principalmente pela quantidade de glicose plasmática e pelo feedback de tecidos sensíveis a insulina, como fígado, músculo e tecido adiposo. Uma falha nesse controle permite o desvio na tolerância de glicose normal e constitui a base para o desenvolvimento de diabetes (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006).

A secreção de insulina induzida por glicose utiliza-se de ATP para acontecer. Primeiro há a oclusão dos canais de potássio sensíveis a ATP desencadeado pelo aumento da relação ATP/ADP, posteriormente ocorre a despolarização da membrana celular e, por conseguinte, o influxo de cálcio através dos canais de cálcio voltagem dependente, resultando na liberação de grânulos de insulina (PRENTKI, 1996; FRIDLYAND; JACOBSON; PHILIPSON, 2013).

Quando as células  $\beta$  ainda são saudáveis, ocorrem mudanças tanto na função quando na massa dessas células para suportar a resistência insulínica. Porém, quando elas possuem sua função danificada podem resultar em DM2. Sendo seu dano também associado a falha da célula

em responder ao estímulo por secretagogue, substância que promove a redução da liberação de insulina (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006).

Em DM2 a perda progressiva de função das células  $\beta$  e subsequente secreção irregular de insulina promove o aumento de glicose plasmática em jejum. Esses níveis elevados também contribuem para disfunção dessas células através de efeitos glicotóxicos - efeito prejudicial sobre a sensibilidade insulínica (PRENTKI; NOLAN 2006) - e elevação da taxa de apoptose e consequente perda de massa das células  $\beta$  (BUTLER et al., 2003).

A alta concentração de NEFA, que apesar de participar da liberação normal de insulina, quando exposto cronicamente, também está associado a redução da biossíntese de insulina (SAKO; GRILL, 1990). Além disso, a resistência insulínica impulsiona a diferenciação de células  $\beta$  em células  $\alpha$  e a preeminência desta última (MEZZA et al., 2014).

#### 1.2.4 Fatores de risco, diagnóstico e tratamento de DM2

A causa de Diabetes Mellitus tipo 2 é multifatorial, decorrendo de fatores ambientais que atuam em pessoas que tem suscetibilidade genética para o desenvolvimento da patologia. Algumas condições aumentam a chance de DM2 e são chamadas de fatores de riscos (DIAMOND, 2003).

Há alguns fatores que não são modificáveis, tais como grupo étnico, histórico familiar de diabetes, diabetes gestacional prévia e envelhecimento. E outros são fatores modificáveis, entre eles o excesso de peso e obesidade, inatividade física, má alimentação, tabagismo e consumo exagerado de bebida alcoólica (WHO, 2003; 2016).

A ocorrência de DM2 em indivíduos mais velhos deve-se ao declínio da proliferação celular de células  $\beta$ , da função dessas células e/ou da sensibilidade insulínica resultante da idade (KONG et al., 2016). Já a alimentação rica em calorias e falta de exercício físico contribuem para o excesso de peso e obesidade e estes, por sua vez, à resistência insulínica que desencadeia a DM2 (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006).

Algumas outras condições também são fatores de risco, como mulheres com ovário policístico, já que é uma doença que está associada a resistência insulínica e obesidade (SIM et

al., 2016), estresse oxidativo que também contribuiu para resistência à insulina e dislipidemia (TANGVARASITTICHAJ, 2015) e hipertensão (GRESS et al., 2000).

A diabetes afeta populações étnicas em uma frequência diferente. Como por exemplo, DM2 é mais comum entre afro americanos, latinos, americanos nativos e americanos asiáticos (ADA, 2015). Parte dessa variabilidade pode ser atribuída a fatores ambientais e culturais, mas principalmente a fatores genéticos (PRASAD; GROOP, 2015).

A herdabilidade também é um fator que está intrinsecamente relacionado ao aumento de suscetibilidade a DM2. Estudos tem demonstrado que o risco de desenvolvimento da patologia é aumentado em 40% quando o indivíduo possui um dos pais acometidos da doença e em torno de 70% quando ambos são afetados (AHLQVIST; AHLUWALIA; GROOP, 2011). Quando se trata de qualquer membro da família, o risco de desenvolver a doença é de 2,5 vezes maior, tornando-se ainda mais aumentando quando são dois ou três membros afetados e quando esses parentais são diagnosticados antes dos 50 anos (SCOTT et al, 2013).

Outra evidência de herdabilidade são as observações feitas em gêmeos. Enquanto a taxa de concordância em dizigóticos é entre 20% e 30%, em monozigóticos pode chegar até 70% (AHLQVIST; AHLUWALIA; GROOP, 2011).

Os primeiros sintomas da DM2 consistem em poliúrica, polidipsia, aparecimento de feridas com cicatrização lenta, problemas visuais, fome constante e infecções frequentes. Posteriormente, com o agravamento da patologia, podem evoluir para outras anormalidades, como doença coronariana, acidente vascular encefálico, doença arterial, nefropatia, retinopatia, neuropatia, doenças cardiovasculares, insuficiência cardíaca, cegueira e amputação dos membros inferiores (CARRERA; MARTÍNEZ-MORENO, 2013; PONTAROLO et al., 2015).

A DM2 pode ocorrer em qualquer idade, mas geralmente é diagnosticada após aos 40 anos. Apesar do diagnóstico ser difícil, pois muitas vezes ela se apresenta assintomática por anos, há quatro principais formas de diagnóstico de diabetes segundo os critérios propostos em 1997 pela American Diabetes Association (ADA) e posteriormente aceitos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) que se encontram na tabela 1 (SBD, 2016).



**Tabela 1** - Valores de referência para o diagnóstico de diabetes em diferentes metodologias.

	<b>VALOR DE REFERÊNCIA</b>
<b>Glicemia em Jejum</b>	≥ 126 mg/dL
<b>Glicemia de 2h pós sobrecarga de 75g de glicose</b>	≥ 200mg/dL
<b>Glicose plasmática em qualquer momento do dia</b>	≥ 200mg/dL
<b>Hemoglobina glicada (HbA1c)</b>	≥ 6,5%
	Obs.: Entre 5,7 e 6,4% é zona de risco para Diabetes.

Em relação a terapêutica da doença, o tratamento tem como alvo o controle glicêmico a fim de reduzir os sintomas, complicações e até mesmo mortalidade. Esse controle pode ser através de dieta, a prática de exercício físico e/ou uso de medicações, que podem ser sensibilizadores da ação insulínica (metformina e tiazolidinedionas), medicamentos que aumentem a absorção de glicose no intestino (acarbose e miglitol) ou aumentem a secreção de insulina (repaglinida e sulfoniluréia), anti-hiperglicemiantes, antiobesidades e em casos mais graves o uso de insulina (ARAUJO et al., 2000; PONTAROLO et al., 2015).

### **1.3. Genes relacionados com suscetibilidade e resistência para Diabetes Mellitus Tipo 2 fora do HLA**

Diabetes Tipo 2 é considerada uma patologia poligênica e heterogênea, onde múltiplos genes e a combinação deles está envolvida na resposta metabólica dos indivíduos diabéticos (HERTEL et al., 2013). Há anos que pesquisadores tem buscado encontrar genes candidatos a DM2 com o propósito de mapear a ligação entre eles, entender como são influenciados ambientalmente e, a partir disso, descobrir alvos terapêuticos e biomarcadores que auxiliem no diagnóstico dessa doença hiperglicêmica.

Esses genes descritos associados a Diabetes Mellitus tipo 2 estão envolvidos nas duas principais vias envolvidas na causa desta doença, constituindo o grupo dos que afetam a resistência insulínica em tecidos, como o músculo e fígado, e os que afetam o crescimento, proliferação, desenvolvimento e função de células  $\beta$  pancreáticas (NIKITIN et al., 2015).

O gene inibidor de quinase dependente de ciclina 2A/2B (CDKN2A/2B), por exemplo, é um dos que tem sido associado a DM2. Este gene desempenha papel importante na regeneração e função de células  $\beta$  através da codificação das proteínas regulatórias p16<sup>INK4a</sup> e p15<sup>INK4b</sup> que inibe a ciclina dependente de quinase 4 (CDK4) e ciclina dependente de quinase 5 (CDK5). Assim, quando superexpresso a proliferação de ilhotas pancreáticas é reduzida (BAO; XIE; YANG, 2012).

O IGF2BP2 (gene que codifica a proteína 2 de ligação ao mRNA do fator de crescimento 2 semelhante a insulina) e o CDKAL1 (gene que codifica a proteína 1 associada a subunidade reguladora CDK5) têm sido associados com a reduzida secreção insulínica estimulada por glicose e, portanto, seus polimorfismos também são associados a DM2 (GROENEWOUD et al., 2008).

SLC30A8 (Família de transportadores de soluto 30) é o gene que codifica o transportador de zinco tipo 8, responsável por regular a concentração de zinco em células  $\beta$ . Tanto a concentração de zinco quanto de cátion é importante na biossíntese e armazenamento de insulina. Como na diabetes a principal causa é a secreção inadequada de insulina, esse gene tem claramente forte relação com tal patologia (DUNN, 2005).

KCNJ11 (Canal de potássio para retificação interna, subfamília J, membro 1) é o gene que codifica um canal de íons de potássio para retificador interno (Kir6.2) que junto ao receptor de sulfonilureia de alta afinidade 1 (SUR1) forma o canal KATP, responsável por mediar a secreção de insulina e também tem polimorfismos associados a DM2 (HAGHVIRDIZADEH et al., 2015)

O gene FTO (associado a massa gorda e obesidade) foi descrito como fator genético para obesidade envolvido na homeostase energética pelo controle de gasto energético (FISCHER et al., 2009). Como a obesidade é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de DM2 em diferentes grupos étnicos, alguns estudos têm associado formas do gene FTO a esta patologia hiperglicêmica (ZDROJOWY-WELNA et al., 2014). Alguns polimorfismos destes genes estão associados a diabetes apenas em indivíduos obesos (PHANI et al., 2016), porém outros apresentam ligação independente da adiposidade (XIAO et al., 2015).

CAPN10 é o gene codificador da cisteínas protease calpaína 10 que foi identificada como facilitador da translocação GLUT4 através da fosforilação de PKB em células musculares

esqueléticas humanas primárias cultivadas *in vitro*, afetando conseqüentemente a homeostase da glicose (BROWN; YEAMAN; WALKER, 2007). No pâncreas a liberação dos grânulos de insulina é influenciado pela atividade de canais iônicos na membrana e processos dependentes de cálcio, função que pode ser desempenhada pelas calpaínas (ZHOU et al., 2003). Elas desempenham papel no transporte de glicose e na liberação insulínica estimulada por glicose, tendo forte relação com DM2 quando sua expressão é diminuída (RIDDERSTRÅLE; NILSSON, 2008).

MTNR1B é o gene codificador do receptor de melatonina 1B que desempenha atividade na regulação do ritmo circadiano. Esse gene tem alta expressão nas células  $\beta$  pancreáticas de indivíduos com diabetes tipo 2, sugerindo uma possível ligação entre o ritmo circadiano e a homeostase de glicose como modulador da glicose plasmática em jejum (BOUATIA-NAJI et al., 2009) e correlacionado inversamente a secreção insulínica através do bloqueio de ciclase adenilato que é o modo de ação de hormônios de incretina, como GLP-1 e GIP (LYSSENKO et al., 2009).

A ectonucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase 1 é codificada pelo gene ENPP1 e possui atividade na sinalização insulínica, podendo desempenhar resistência insulínica através da inibição da autofosforilação do receptor de insulina (COSTANZO et al., 2001). HNF1B é o gene codificador do fator nuclear hepático 1 $\beta$  que desempenha atividade no desenvolvimento embrionário e diferenciação das células pancreáticas. Ambos tem sido fortemente associado a DM2 (POLL et al., 2006).

O gene do fator de transcrição 7 semelhante ao 2 (TCF7L2), por meio da via de sinalização WNT, controla o gene do pró-glucagon (GCG). Este por sua vez codifica GLP-1 que desempenha ação na secreção de insulina, inibição da secreção de glucagon e estimula proliferação celular  $\beta$ -pancreática (HUANG et al., 2018). WSF1 é o gene codificador da proteína wolframina e está envolvida com o canal transmembranar de cálcio, influenciando na atividade de células  $\beta$  (INOUE et al., 1998).

NOTCH2, cujo produto gênico está envolvido no desenvolvimento e regeneração do fígado e, por conseguinte, no metabolismo de lipídeo e glicose, influencia na secreção insulínica (BI; KUANG, 2015) e PPAR $\gamma$ , cujo produto gênico atua como fator de transcrição que estimula síntese de proteínas envolvidas no metabolismo energético e inflamação, é alvo de antagonistas (tiazolidinedionas) usados para aumentar a sensibilidade de tecido adiposo e hepático à insulina para o tratamento de DM2 (BERMUDEZ et al., 2010).

Além dos genes descritos há muitos outros associados a DM2, como o ADAMTS9 (BOESGAARD et al., 2009), JAZF1 (OMORI et al., 2009), HHEX (VAN VLIET-OSTAPTCHOUK et al., 2008) e KCNQ1 (MA et al., 2015). No quadro 1 estão identificados alguns polimorfismos desses genes já comprovados serem associados a DM2 e a população no qual se encontra.

**Quadro 1** - Polimorfismos gênicos associados a Diabetes Mellitus tipo 2 em diferentes populações/etnia.

LOCAL	GENE	POLIMORFISMO	ETNIA/POPULAÇÃO	REFERÊNCIA
9p21	CDKN2A/2B	rs10811661	Chineses Hans	WU et al., 2008
			Franceses Caucasianos (Europids)	DUESING et al., 2008
3q27	IGF2BP2	rs4402960 rs1470579	Asiáticos	RAO et al., 2016
			Chineses Hans	
6p22.3	CDKAL1	rs77569992	Asiáticos Caucasianos	LI et al., 2013
8q24.11	SLC30A8	rs11558471 rs13266634 rs13266634	Chineses Hans	XU; WANG; CHEN, 20 12
			Europeus	XIANG et al., 2008
			Asiáticos	CHENG et al., 2015
11p15.1	KCNJ11	rs5219 rs5215	Chineses Hans	LIU et al., 2006
			Coreanos	KOO et al., 2007
		rs5219	Mauritanos Moor	ABDELHAMID et al., 2013
			Tunísinos	LASRAM et al., 2014.
			Árabes	GLOYN et al., 2003
		rs5210 rs5218 rs886288 rs2285676	Caucasianos	HAGHVIRDIZADEH et al., 2015
Alguns asiáticos				
16q12.2	FTO	rs9939609 rs7195539* rs8050136 rs9939609	Indianos	PHANI et al., 2016
			Uiugures	XIAO et al., 2015

		rs9939609	Asiáticos (leste e sul) Noruegueses	LI et al., 2012 HERTEL et al., 2011
<b>2q37.3</b>	CAPN10	rs3792267 (SNP43)	Afro americanos	GARANT et al., 2002
		rs2975760 (SNP44)	Branços dinamarqueses	JENSEN et al., 2006
		rs3792267 (SNP43)		
<b>11q14.3</b>	MTNR1B	rs10830963	Suecos Chineses Hans Europeus	LYSSENKO et al., 2009 RÖNN et al., 2009 SPARSØ et al., 2009
		rs1387153	Europeus	BOUATIA-NAJI et al., 2009
<b>6q23.2</b>	ENPP1	rs1044498 (K121Q)	Chineses Marroquinos Franceses Coreanos	LI, 2012 EL ACHHAB et al., 2009 MEYRE et al., 2007 LEE et al., 2010
		rs2229295	Japoneses	GODA et al., 2015
		rs4430796	Chineses Hans	WANG et al., 2009 ZHANG et al., 2012
		rs752010 rs7501939		
<b>17q12</b>	HNF1B	rs757210	Caucaseanos	WINCKLER et al., 2007
<b>10q25.2- q25.3</b>	TCF7L2	rs7903146	Chineses Hans	DOU et al., 2013
		rs12255372 rs7903146	Finlandês	SCOTT et al., 2006
		rs11196205 rs290487 rs12255372 rs7903146	Asiáticos	LUO et al., 2009
		rs734312*	Caucasianos	CHENG et al., 2013
<b>4p16.1</b>	WFS1	rs10010131*	Asiático	
		rs10010131* rs752854*	Branços Europeus	FRANKS et al., 2008
<b>3p14.1</b>	ADAMTS9	rs4607103	Europeus	BOESGAARD et al., 2009
		rs4411878*	Holandeses do sul	VAN HOEK et al., 2008
		rs864745	Japoneses	OMORI et al., 2009

<b>7p15.1</b>	JAZF1	rs1635852*	Holandeses do sul	VAN HOEK et al., 2008
<b>10q23.33</b>	HHEX	rs1111875 rs7923837	Dutch Caucasianos	VAN VLIET- OSTAPTCHOUK et al., 2008.
<b>11p15.4</b>	KCNQ1	rs2283171	Chineses Uyghur	MA et al., 2015

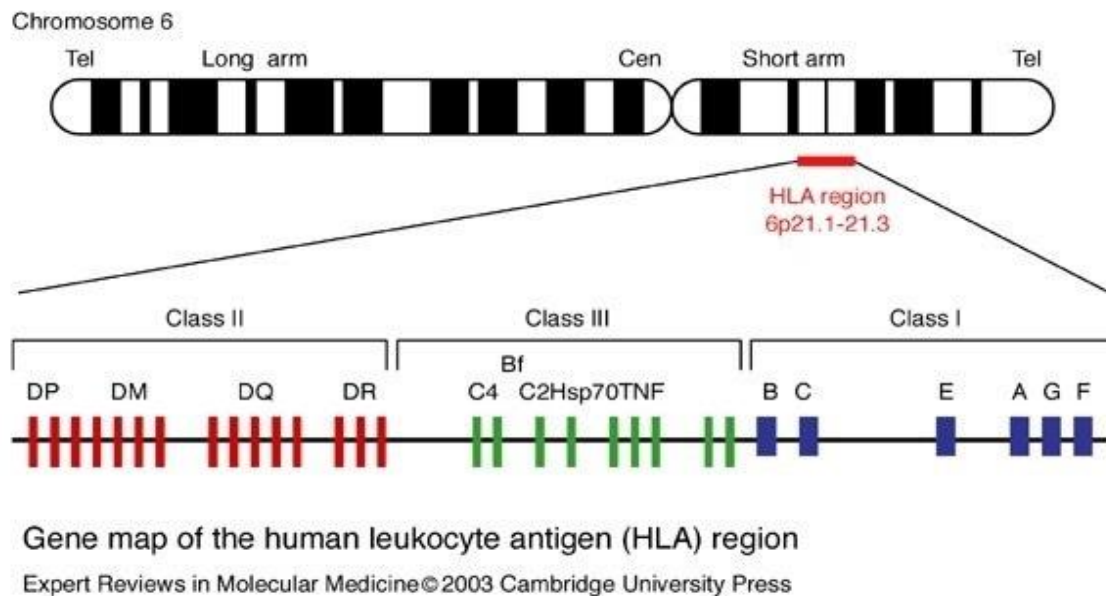
\*Polimorfismo de proteção contra Diabetes Tipo 2

#### 1.4. Antígeno Leucocitário Humano (*Human leukocyte antigen – HLA*)

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) foi descoberto como o principal locus genético que controla a rejeição de enxertos. Em humanos essa região genética é chamada de Antígeno Leucocitário Humano (HLA, do inglês, *human leukocyte antigens*), pois foi descoberta como antígenos dos leucócitos que podiam ser identificados com anticorpos específicos. E está localizada no braço curto do cromossomo 6 (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012).

O HLA é um conjunto de genes altamente polimórficos, com cerca de 18.181 alelos (IPD-IMGT/HLA Database <<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html>>). Essa região possui três grupos: HLA de classe I, HLA de classe II e outros genes não polimórficos (classe III) que não codificam moléculas de histocompatibilidade, mas são moléculas que podem estar ou não envolvidas com o sistema imune. Por exemplo, algumas citocinas – TNF, LT e LT-B, genes complemento (C4 e C2), proteína de choque térmico, entre outras (MAGALHÃES; BOHLKE; NEUBARTH, 2004; NEPOM; ERLICH, 1991) (Figura 1).

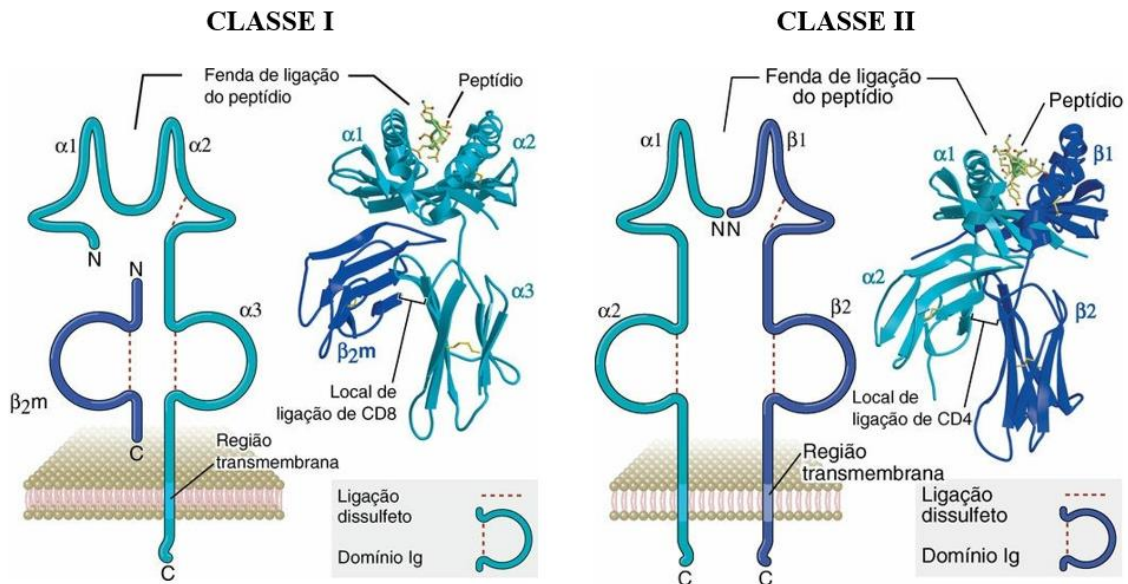
**Figura 1.** Mapeamento dos genes HLA no cromossomo 6 humano.



As moléculas de HLA classe I se expressam em todas as células nucleadas, variando o nível de expressão dependendo do tecido que se encontra. São constituídas por uma cadeia  $\alpha$  ligada não-covalentemente a proteína  $\beta$ 2-microglobulina. A cadeia polipeptídica  $\alpha$  é codificada pelos genes de classe I e a cadeia polipeptídica  $\beta$  é codificada por um gene presente no cromossomo 15, o gene da  $\beta$ 2-microglobulina. A cadeia  $\alpha$  é constituída de cinco regiões:  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  (domínio de ligação peptídica),  $\alpha_3$  (domínio semelhante a imunoglobulina), região transmembranar e cauda citoplasmática. Os domínios aminoterminais  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  formam uma fenda de ligação de peptídeos que serão apresentados aos linfócitos T, sendo essa a região de polimorfismo da molécula. E o domínio  $\alpha_3$  o local constante de ligação para o receptor CD8 (Figura 2). Essa classe possui três principais locus: HLA-A, HLA-B e HLA-C (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012; KLEIN; SATO, 2000).

As moléculas de HLA classe II são expressas principalmente em células dendríticas, macrófagos, linfócitos B, células epiteliais tímicas e células T ativadas. Elas são compostas por duas cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  codificadas pelos próprios genes de classe II. As regiões aminoterminais  $\alpha_1$  e  $\beta_1$  formam a fenda que possui os resíduos polimórficos. E o domínio  $\beta_2$  contém o local de ligação para o correceptor CD4 da célula T (Figura 2). Os principais locus dos genes HLA II são: HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012; KLEIN; SATO, 2000).

**Figura 2** - Estrutura da molécula de HLA classe I (esquerda) e classe II (direita). Fonte: *ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012.*



Devido à grande quantidade de polimorfismo descobertos o Comitê Internacional elaborou um sistema de nomenclatura para esses genes. Os genes HLA de classe I são denominados HLA-A, HLA-B e HLA-C acrescentados de 4 dígitos no qual os dois primeiros referem-se a família de alelos, que frequentemente corresponde ao antígeno sorológico transportado pelo o alótipo, e os dois últimos ao alelo específico. Por exemplo, HLA-A\*02:01, HLA-A\*02:02 e HLA-A\*02:03. Em trabalhos antigos é possível verificar HLA-Cw para diferenciar da nomenclatura do sistema complemento (nomeadas como C1, C2, C3 etc.) ou HLA-Aw e HLA-Bw, indicando que aquela nomenclatura era provisória e assim que a identidade do antígeno fosse definida, a letra “w” seria retirada (DONADI, 2000; MARSH et al., 2010).

Nos genes HLA de classe II a nomenclatura é um pouco diferente já que essa classe possui duas cadeias polimórficas. Além da identificação do locus, acrescenta-se ou a letra A (correspondendo a cadeia  $\alpha$ ) ou a letra B (correspondendo a cadeia  $\beta$ ). E como cada cadeia é codificada por diferentes genes, outro número é colocado após o A ou B. E por fim são acrescentados os 4 dígitos. Um exemplo de nomenclatura nessa classe é o HLA-DRB4\*01:02



(em que DR corresponde ao locus; B a cadeia  $\beta$ ; 4 ao gene quatro; 01 refere-se tipificação sorológica; e 02 ao alelo específico) (DONADI, 2000).

Em alguns casos, um quinto e sexto dígito são acrescentados a designação do alelo para indicar que houve substituição sinonímia de nucleotídeos dentro da sequência codificante. Exemplo: HLA-DRB1\*01:02:01 e HLA-DRB1\*01:02:02. Ou, ainda, um sétimo e oitavo dígito, para indicar alelos que diferem apenas em polimorfismos em sequências dos íntrons ou nas regiões não traduzidas 5' e 3' que flanqueiam regiões de íntrons e éxons. E as vezes um sufixo N é acrescentado para apontar que o gene não codifica a respectiva proteína (MARSH et al., 2010).

A forma de nomenclatura citada até então se dá por técnicas de tipificação em alta resolução. Porém há técnicas em média resolução cuja nomenclatura é dada por código NMDP (National Marrow Donor Program). Este código restringe a lista de alelos a serem considerados em um determinado locus, eliminando algumas possibilidades. Para isso, após a tipificação sorológica é dada uma sequência de duas a cinco letras que indica os alelos específicos possíveis. Por exemplo, HLA-DRB1\*08:AS indica que pode ser HLA-DRB1\*08:07 ou HLA-DRB1\*08:11 e HLA-DRB1\*04:AMSCX indica tipificação HLA-DRB1\*04:11 ou HLA-DRB1\*04:203 (SCHÄFER; SCHMIDT; SAUTER, 2017; ALLELE CODE LISTS <<https://bioinformatics.bethematchclinical.org/HLA-Resources/Allele-Codes/Allele-Code-Lists>>).

Os genes do HLA são herdados em bloco, no qual o conjunto de genes de um mesmo cromossomo são herdados juntos. Esse conjunto é chamado de haplótipo e se expressa de forma codominante, onde dois alelos de um mesmo gene são expressos sem que haja a prevalência de um alelo sobre o outro (MAGALHÃES; BOHLKE; NEUBARTH, 2004). O indivíduo herda os genes como unidades isoladas (haplótipos) de cada progenitor, seguindo a herança genética mendeliana, embora possam ocorrer recombinações dentro do sistema HLA (HOWELL; CARTER; CLARK, 2010).

A principal atividade desempenhada pelas moléculas HLA é a apresentação de antígeno peptídico para ser reconhecido pelos linfócitos T. Essa atividade ocorre inicialmente pela degradação de proteínas em peptídeos que se ligarão a molécula HLA e em seguida serão expostos na superfície das APCs (Células Apresentadas de Antígeno) (MAGALHÃES; BOHLKE; NEUBARTH, 2004).

As moléculas HLA classe I auxiliam na apresentação de antígenos endógenos (citoplasmáticos). Inicialmente, as proteínas são internalizadas em proteossomos e os peptídeos gerados são liberados no citoplasma e levados para o RE (retículo endoplasmático). Na medida que os peptídeos entram no RE, eles são capturados pelas moléculas classe I recém sintetizadas através do TAP (transportador associado ao processamento antigênico), que se liga a esses peptídeos do citosol e se liga a membrana do RE através de proteínas de transposição chamada tapasina que também estão ligadas às moléculas classe I. Em seguida, a TAP é liberada e a molécula HLA com o peptídeo é transportada para superfície celular para ser apresentada a célula T CD8+ (célula citotóxica) (MOSAAD, 2015).

No caso das moléculas HLA classe II, são apresentados antígenos extracelulares. As proteínas, seja de microrganismos, internalizadas por fagocitose ou de superfície de célula B são processadas em endossomos e originam inúmeros peptídeos. Em seguida, a APC sintetiza moléculas classe II, que tem sua fenda ocupada pelo peptídeo da cadeia invariante classe II (CLIP) e a leva até a vesícula que possui uma proteína chamada DM que troca o CLIP por um peptídeo da proteína processada. E por conseguinte, essa molécula HLA com o peptídeo é expressa na superfície celular da APC e apresentada à célula T CD4+ (célula auxiliar) (MOSAAD, 2015).

### **1.5. Relação entre Diabetes Mellitus Tipo 2 e Antígeno Leucocitário Humano**

O Antígeno Leucocitário Humano é uma região que tem se demonstrado alvo de estudo em razão da sua função nas atividades imunológicas, influência no sucesso de transplante de tecidos e principalmente por ter demonstrado forte influência na suscetibilidade a doenças complexas, como diabetes e obesidade (ALPER et al., 2006). Segundo HORTON et al. (2008) este envolvimento com patologias complexas deve-se a alta densidade, polimorfismo e desequilíbrio de ligação nos locus gênicos.

A ocorrência de desequilíbrio de ligação entre os genes - associação não aleatória entre alelos presentes em dois ou mais locus gênicos - associado com a herdabilidade em bloco, proporciona a formação de haplótipos ancestrais e a combinações entre eles. Conseqüentemente, constitui regiões conservadas que podem ter implicações práticas, tal como

o seu uso como marcador genético no estudo de suscetibilidade a doenças (BLOMHOFF et al., 2006).

Haplótipos que se apresentam com maior frequência em uma população do que é esperado ao acaso, podem variar entre os diferentes grupos étnicos e populacionais (CHOO, 2007) ou incidir em frequências diferentes em subconjuntos dentro da mesma população (ALPER et al., 2006).

Segundo DONADI (2000), existe alguns mecanismos que permitem a associação dos genes HLA com determinadas patologias, entre eles a capacidade das moléculas de histocompatibilidade funcionarem como receptor para alguns agentes etiológicos, a capacidade de selecionar peptídeos antigênicos a ser apresentado ao linfócito T, mimetizar agentes etiológicos, gerar uma resposta autoimune devido indução exacerbada de moléculas de classe II e a possibilidade de associação com outros genes fora e dentro do sistema de histocompatibilidade.

Alguns trabalhos já verificaram a associação entre HLA e as diferentes formas clínicas de diabetes. Por exemplo, os alelos DQB1\*02 e DRB1\*1302 são conhecidos para o aumento de risco para diabetes gestacional, enquanto DQB1\*0602 como protetor (GUO et al., 2016). Já DR3, DQA1\*0501, DQB1\*0201, haplótipo DR3-DR4 e haplótipo HLA-DR2, DQB1\*0602 são descritos como fortemente associados a diabetes tipo 1 (FAGBEMI et al., 2017; JERRAM; LESLIE, 2017).

Para diabetes tipo 2 alguns genes HLA também já foram descritos. Como a frequência aumentada de HLA-A2 reportada na população de Pima no sudoeste dos Estados Unidos (WILLIAMS et al., 1981), de HLA-Bw22 na população de Nauru, uma ilha isolada do Pacífico Central (SERJEANTSON et al., 1983) e de HLA-DQA1 na etnia Han da China (MA et al., 2013). Outras associações têm mostrado que esse complexo gênico também pode ter uma ação protetora sobre a doença, como o alelo HLA-DRB1\*02 em indivíduos de Pima e da etnia Han em chineses (WILLIAMS et al., 2011).

Tanto os genes HLA quanto os genes fora do HLA já descritos associados a Diabetes Mellitus tipo 2 só explicam 10% da herdabilidade desta patologia, mostrando que muito ainda precisa ser descoberto (BILLINGS; FLOREZ, 2010).

Além de trabalhos populacionais de frequência alélica, a abordagem de redes de interação com base em dados de expressão ou *Gene Ontology* são interessantes para o estudo

de doenças complexas, já que as interações genéticas e física constituem uma ferramenta de compreensão da suscetibilidade de locus à diferentes patologias, como por exemplo diabetes (BERGHOLDT et al, 2007; SANDOR; BEER; WEBBER, 2017).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Verificar associação de alelos HLA em indivíduos com histórico familiar de Diabetes Mellitus Tipo 2 dentro da população de Doadores Voluntários de Medula Óssea em São Luís.

### **2.2 Objetivos específicos**

Investigar o polimorfismo de alelos HLA no Maranhão e comparar com os de outras populações já descritas na literatura.

Avaliar a frequência de polimorfismo HLA através do método PCR-SSOP em indivíduos com histórico familiar de Diabetes Mellitus Tipo 2 e sem histórico familiar da patologia.

Associar as variantes genéticas polimórficas com a suscetibilidade de desenvolvimento do Diabetes Tipo 2.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Local de realização**

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade – LEGH, do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA), São Luís – MA e no Laboratório de Bioquímica do departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Maranhão, campus Bacanga.

#### **3.2 População de estudo, critério de inclusão e exclusão**

Foram amostrados 274 indivíduos Doadores Voluntários de Medula Óssea (DVMO), todos adultos de 18 a 60 anos, no Centro de Hematologia no Maranhão (HEMOMAR) em São Luís, mediante assinatura do termo de consentimento informado (Apêndice 1). Destes, 183 constituíram o grupo de doadores voluntários que possuem algum familiar até de terceiro grau com DM2 na família e 91 constituíram o grupo dos doadores voluntários que não possuem DM2 na família. Os indivíduos com caso de DM2 na família com nível de parentesco a partir do 4º grau foram incluídos no grupo dos indivíduos sem histórico familiar. Alguns participantes tiveram o material extraviado após a coleta de dados no HEMOMAR e foram excluídos da amostra.

#### **3.3 Coleta de amostras**

As amostras foram obtidas durante o cadastro de Doadores Voluntários de Medula Óssea no Hemocentro do Maranhão (Anexo 2) e a outra parte a partir do contato telefônico fornecido pelo próprio HEMOMAR de indivíduos que já eram DVMOs e já possuíam tipificação HLA. Estes últimos foram convidados a participar da pesquisa no LEGH.

Todos os participantes da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 1), foram submetidos a entrevista (Apêndice 2) e doaram dois tubos de 2 tubos de 5 mL de amostra sanguínea contendo EDTA (ácido etileno diamino tetracético), um

para análise da hemoglobina glicada (HbA1c) e o outro material para tipificação HLA. Com exceção dos que já tinham tipificação HLA, no qual foi coletado apenas um tubo para o exame de HbA1c.

### **3.4 Diagnóstico dos indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2**

Aqueles indivíduos que resolveram participar da pesquisa tiveram amostras de sangue coletadas para análise de hemoglobina glicada (HbA1c). Esta análise consiste no princípio da ligação da glicose sanguínea à molécula de hemoglobina. Quanto maior os níveis de glicose circulante, mais ligações ocorrerão. Logo, o resultado de hemoglobina glicada é dada em porcentagem de hemoglobina ligada à glicose.

Os indivíduos foram considerados diabéticos quando apresentaram HbA1c  $\geq 6,5\%$  e em zona de risco para diabetes quando a faixa de hemoglobina glicada era entre 5,7 e 6,4%, segundo dados do International Expert Committee e Sociedade Brasileira de Diabetes (INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE, 2009; SBD, 2016).

### **3.5 Extração e purificação do DNA genômico**

O DNA genômico foi isolado a partir de 200 $\mu$ L do sangue total utilizando o Biopur Kit de Extração Mini Spin Plus (Biometrix, PR, Brasil). O material genético isolado foi quantificado, diluído em água milliQ autoclavada para concentração de 10ng/ $\mu$ L e armazenado em freezer a -20°C. O restante do sangue coletado (cerca 1mL) foi armazenado a -80°C como *back-up*.

### **3.6 Tipificação dos genes HLA classe I e classe II por PCR-SSOP**

A tipificação HLA foi feita pela técnica Labtype SSOP (*Sequence Specific Oligonucleotide Probes*) que fornece sondas de oligonucleotídeos de sequência específica imobilizadas em microesferas codificadas fluorescentes para identificação de alelos HLA em amostras de DNA genômico.

Dessa forma, o DNA amplificado é desnaturado permitindo a hibridização com as sondas complementares ao DNA alvo. A intensidade de fluorescência PE (ficoeritrina) emitida em cada microesfera foi lida pelo analisador de fluxo LabScan 100 que gerou os dados que posteriormente foram interpretados pelo Software *Fusion versão 3.7* que, por sua vez, determinou a genotipagem da amostra.

### **3.7 Análise Estatística**

O cálculo do tamanho amostral foi feito utilizando-se o programa estatístico *PASS 15* (2017) e os seguintes parâmetros: População de doadores no Maranhão (7.602) (REDOME, 2015), prevalência de Diabetes tipo 2 no Brasil (7,4%) (CARMECINI; NUCCI, 2012), nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%, erro tolerável de 5% e mais 10% de possíveis perdas.

Os dados foram avaliados pelo programa *NCSS 12* (2018). Inicialmente, foram feitas as análises da estatística descritiva através de tabelas de frequência das variáveis analisadas, estimativa de média e desvio-padrão das variáveis numéricas. Posteriormente, para se verificar a associação das variáveis classificatórias e frequência dos alelos no grupo dos sem histórico familiar de Diabetes tipo 2 e com histórico familiar de DM2 foi feito o teste não paramétrico de qui-quadrado de independência ( $\chi^2$ ). Para as variáveis numéricas em relação aos dois grupos foi feito o teste de normalidade de Shapiro-Wilk e em seguida o teste *t* de *student* independente. O nível de significância para se rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%, isto é, considerou-se como estatisticamente significativo um valor de  $p < 0,05$ . A força de associação alélica foi determinada pelo teste OddsRatio.

### **3.8 Considerações éticas**

Este projeto de pesquisa foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário para verificação de conformidade aos critérios éticos de pesquisa com seres humanos e obteve parecer aprovado com o número 53/2017.



## 4 RESULTADOS

### 4.1 Perfil epidemiológico da amostra

Foram avaliados 274 Doadores Voluntários de Medula Óssea, no qual 91 são indivíduos sem histórico familiar de diabetes tipo 2 e 183 são indivíduos diabéticos ou com caso de DM2 na família. Em ambos os grupos houve predominância de indivíduos na faixa etária entre 18 e 39 anos ( $p < 0,001$ ) e maior frequência de indivíduos pardos (46,15% e 51,37%, respectivamente), seguidos por indivíduos brancos (29,67% e 27,78%, respectivamente) e indivíduos pretos (20,88% e 17,49%, respectivamente) (Tabela 2).

A tabela 2 lista alguns fatores epidemiológicos para Diabetes tipo 2, como a falta de prática de atividade física, alimentação calórica, IMC alto, tabagismo, pressão alta e consumo exacerbado de bebida alcoólica. Ao avaliar o número de pessoas que possui ou não esses fatores de risco, não houve diferença significativa entre os dois grupos, com exceção do IMC de 25 a  $30\text{kg/m}^2$  ( $p = 0,04474$ ).

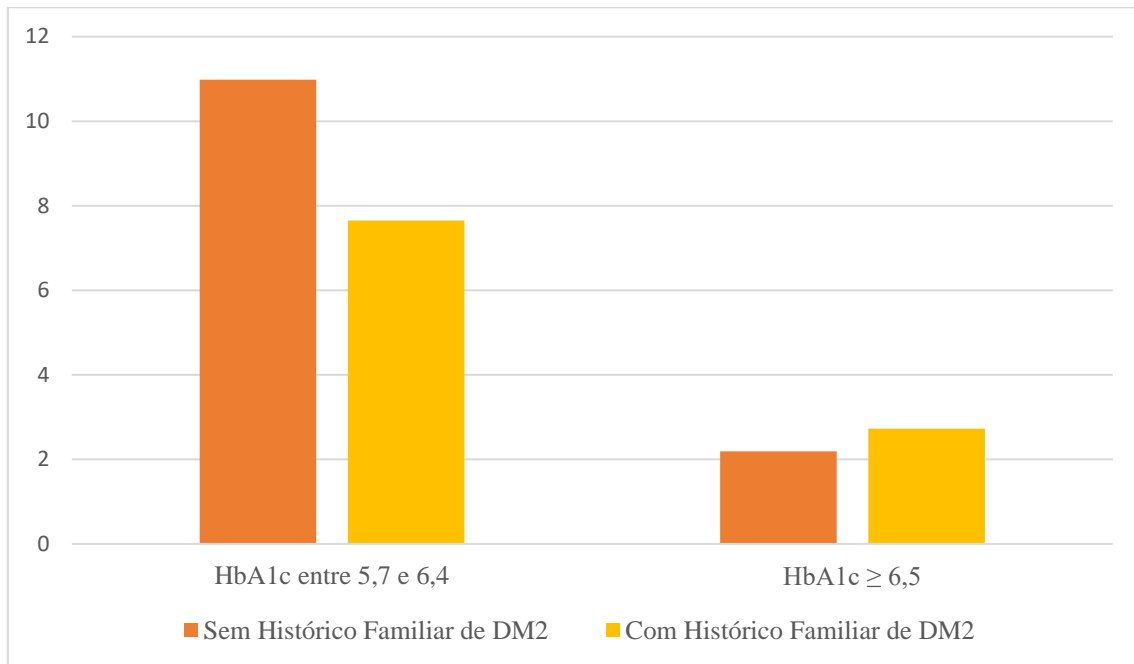
Na análise de hemoglobina glicada realizada com os participantes do estudo, apenas 7 pessoas tiveram HbA1c acima de 6,5%, no qual dois pertencem ao grupo dos sem histórico familiar de DM2 e cinco ao grupo dos com histórico familiar de DM2. Vinte e quatro pessoas tiveram HbA1c na zona de risco para diabetes (HbA1c entre 5,7% e 6,4%) distribuídos nos dois grupos conforme a Figura 3. Quando comparada a mediana de hemoglobina glicada entre os grupos não houve diferença ( $4,89 \pm 0,8$  vs.  $4,72 \pm 0,83$ ,  $p = 0,16097$ ) (Figura 4)

**Tabela 2** - Perfil epidemiológico dos doadores voluntários de medula óssea (DVMOs) sem histórico familiar de Diabetes tipo 2 e com histórico familiar.

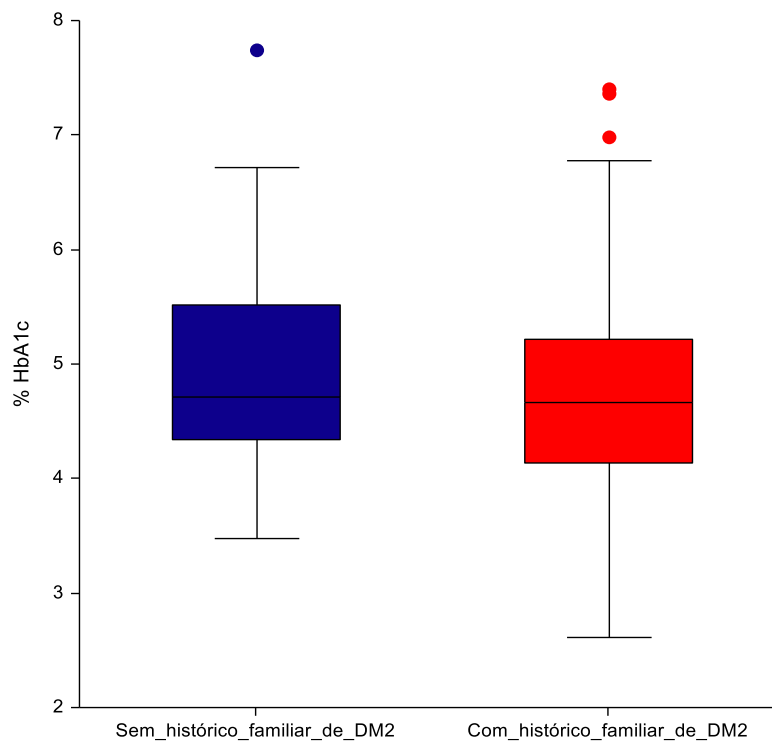
	<b>Sem histórico familiar de Diabetes tipo 2</b>	<b>Com histórico familiar de Diabetes tipo 2</b>	
<b>Sexo</b>			P=0,07050
<i>Feminino</i>	40 (43,95%)	123 (67,21%)	
<i>Masculino</i>	51 (56,04%)	60 (32,79%)	
<b>Faixa etária</b>			P=0,61111
<i>18 - 39 anos</i>	74 (81,32%)	144 (78,69%)	
<i>40 - 60 anos</i>	17 (18,68%)	39 (21,31%)	
<i>Média</i>	31,84 ± 8,54	31,49 ± 9,05	
<b>Grupo racial/étnico</b>			P=0,91180
<i>Branco</i>	27 (29,67%)	49 (26,78%)	
<i>Amarelo</i>	1 (1,10%)	3 (1,64%)	
<i>Pardo</i>	42 (46,15%)	94 (51,37%)	
<i>Preto</i>	19 (20,88%)	32 (17,49%)	
<i>Indígena</i>	2 (2,20%)	4 (2,19%)	
<i>Caucasiano</i>	0	1 (0,55%)	
<b>Atividade física</b>			P=0,61325
<i>Sim</i>	30 (36,14%)	57 (32,95%)	
<i>Não</i>	53 (63,86%)	116 (67,05%)	
<b>Alimentação saudável</b>			P=0,65856
<i>Sim</i>	57 (68,67%)	114 (65,90%)	
<i>Não</i>	26 (31,33%)	59 (34,10%)	
<b>Alimentação calórica</b>			P=0,28137
<i>Sim</i>	44 (53,01%)	104 (60,12%)	
<i>Não</i>	39 (46,99%)	69 (39,88%)	
<b>Tabagismo</b>			P=0,94406
<i>Sim</i>	1 (1,20%)	3 (1,73%)	
<i>Não</i>	77 (92,77%)	159 (91,91%)	
<i>Parou</i>	5 (6,02%)	11 (6,36%)	
<b>Bebida alcóolica</b>			P=0,90266
<i>Sim</i>	38 (45,78%)	83 (47,98%)	
<i>Não</i>	43 (51,81%)	86 (49,71%)	
<i>Parou</i>	1 (1,20%)	4 (2,31%)	
<b>Hipertensão</b>			P=0,22131
<i>Sim</i>	1 (1,20%)	7 (4,05%)	
<i>Não</i>	82 (98,80%)	166 (95,95%)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>			P = 0,00471
<i>IMC &lt; 25 (normal)</i>	59 (64,83%)	86 (47,77%)	
<i>IMC de 25 a 30</i>	16 (17,58%)	66 (36,66%)	
<i>IMC &gt; 30</i>	16 (17,58%)	28 (15,55%)	

P > 0,05 aceita H0. Não há diferença entre os grupos avaliados.

**Figura 3** - Frequência de indivíduos com hemoglobina glicada alterada.



**Figura 4** - Box plot de hemoglobina glicada entre indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.

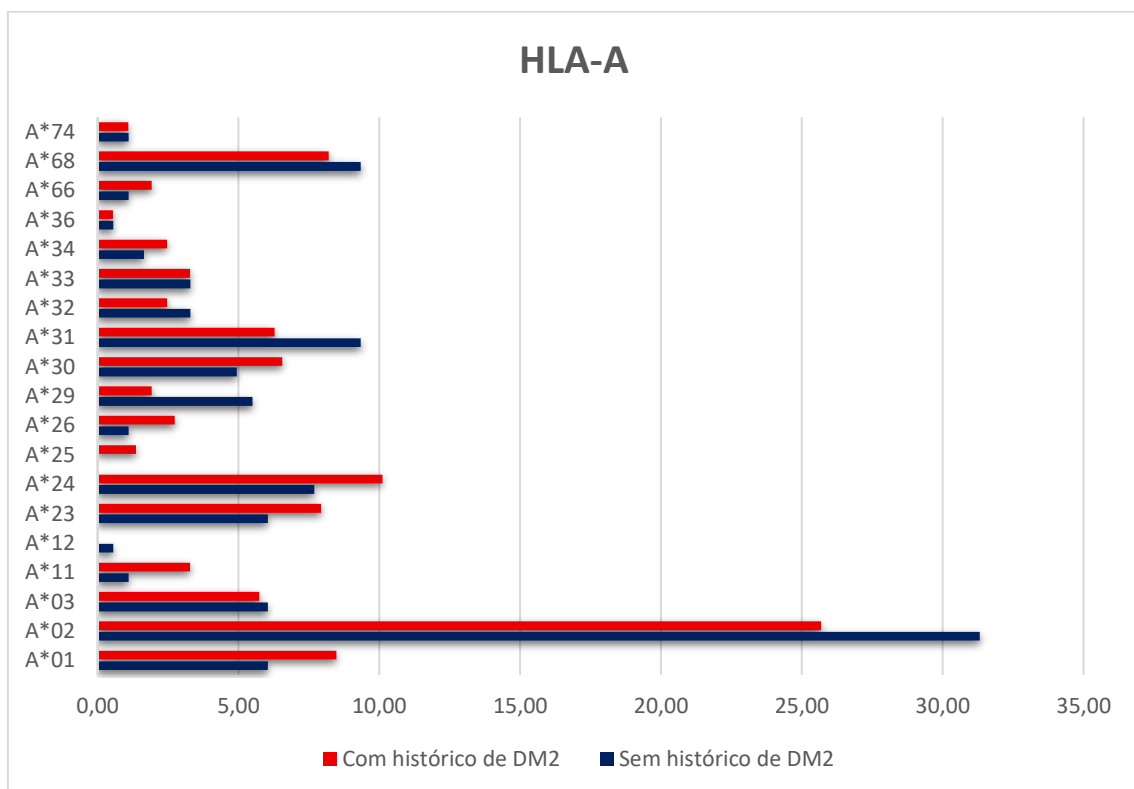


#### 4.2 Frequência alélica HLA de indivíduos sem histórico familiar de diabetes tipo 2 e com histórico familiar de diabetes tipo 2

Dentro da população de doadores voluntários de medula óssea deste estudo foram identificados 19 alelos no locus A, 31 alelos no locus B e 14 no locus DRB1 distribuídos em dois grupos, um sem histórico familiar de diabetes tipo 2 e outro com histórico familiar. A frequência alélica individual encontrada dentro dos grupos encontram-se nas figuras 5, 6 e 7.

Não houve diferença significativa na frequência de alelos HLA-A entre os dois grupos avaliados, apesar de alguns alelos apresentarem frequência maior em relação ao outro grupo. Como é o caso de HLA-A\*31, HLA-A\*29 e HLA-A\*02 dentro do grupo dos sem histórico familiar e HLA-A\*01, HLA-A\*11, HLA-A\*23, HLA-A\*24 e HLA-A\*30 no grupo dos com histórico familiar (Figura 5, Tabela 3).

**Figura 5** - Distribuição alélica em porcentagem do locus HLA-A dentro do grupo de indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.



**Tabela 3** - Frequência e valor de P dos alelos HLA-A dentro do grupo de indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar de DM2.

	Sem histórico familiar de DM2 (%)	Com histórico familiar de DM2 (%)	Valor de P (X <sup>2</sup> )	Odds Ratio
<i>A*01</i>	6,04	8,47	0,4740	0,71
<i>A*02</i>	31,32	25,68	0,4228	1,21
<i>A*03</i>	6,04	5,74	0,9298	1,05
<i>A*11</i>	1,10	3,28	0,2864	0,36
<i>A*12</i>	0,55	0,00	0,3173	**
<i>A*23</i>	6,04	7,92	0,5707	0,76
<i>A*24</i>	7,69	10,11	0,5184	0,76
<i>A*25</i>	0,00	1,37	0,1573	**
<i>A*26</i>	1,10	2,73	0,3458	0,40
<i>A*29</i>	5,49	1,91	0,1360	2,86
<i>A*30</i>	4,95	6,56	0,5922	0,75
<i>A*31</i>	9,34	6,28	0,3982	1,48
<i>A*32</i>	3,30	2,46	0,7048	1,33
<i>A*33</i>	3,30	3,28	1,0000	1,00
<i>A*34</i>	1,65	2,46	0,6534	0,67
<i>A*36</i>	0,55	0,55	1,0000	1,00
<i>A*66</i>	1,10	1,91	0,5987	0,57
<i>A*68</i>	9,34	8,20	0,7727	1,13
<i>A*74</i>	1,10	1,09	1,0000	1,00

\*P < 0,05. Valor estatisticamente significativo.

\*\* Não pode ser calculado, igual a zero ou não se aplica.

Em relação ao locus HLA-B houve diferença significativa entre os grupos avaliados para o alelo HLA-B\*27 e HLA-B\*58, ambos aumentados no grupo dos que não possuem histórico familiar de DM2.

HLA-B\*07, HLA-B\*08, HLA-B\*51 e HLA-B\*57 tiveram maior frequência no grupo dos com histórico na família de DM2, enquanto HLA-B\*14 e HLA-B\*15 apresentaram frequência aumentada no grupo dos sem histórico na família, porém nenhum deles teve diferença estatisticamente significativa (Figura 6, Tabela 4).

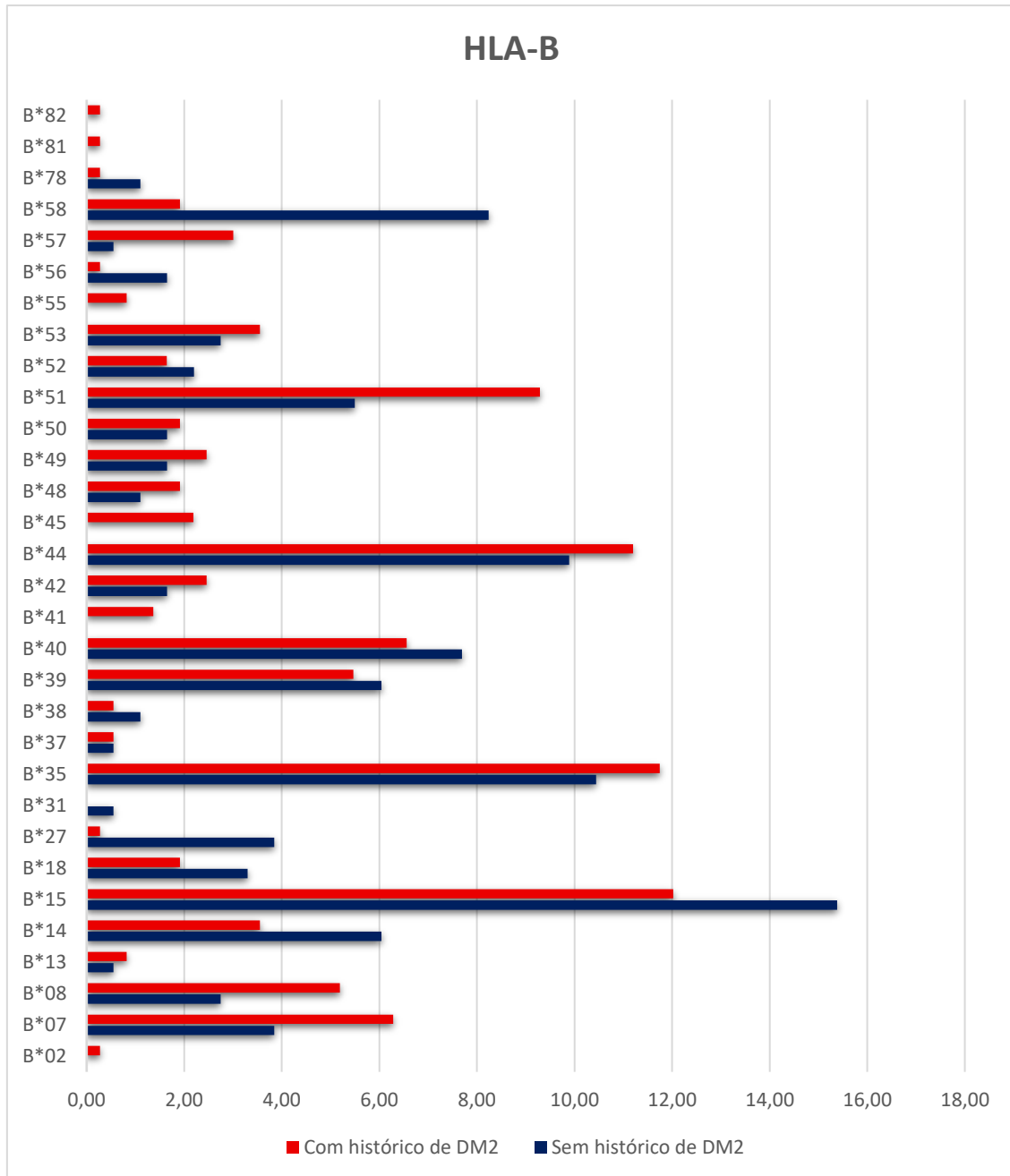
**Tabela 4** - Frequência e valor de P dos alelos HLA-B dentro do grupo de indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar de DM2.

	Sem histórico familiar de DM2 (%)	Com histórico familiar de DM2 (%)	Valor de P (X <sup>2</sup> )	Odds Ratio
<i>B*02</i>	0,00	0,27	0,5271	**
<i>B*07</i>	3,85	6,28	0,3901	0,61
<i>B*08</i>	2,75	5,19	0,3299	0,53
<i>B*13</i>	0,55	0,82	0,7954	0,67
<i>B*14</i>	6,04	3,55	0,3759	1,69
<i>B*15</i>	15,38	12,02	0,4877	1,27
<i>B*18</i>	3,30	1,91	0,5042	1,71
<i>B*27</i>	3,85	0,27	0,0267*	14,0
<i>B*31</i>	0,55	0,00	0,3173	**
<i>B*35</i>	10,44	11,75	0,7483	0,88
<i>B*37</i>	0,55	0,55	1,0000	1,00
<i>B*38</i>	1,10	0,55	0,6326	2,00
<i>B*39</i>	6,04	5,46	0,8586	1,10
<i>B*40</i>	7,69	6,56	0,7486	1,17
<i>B*41</i>	0,00	1,37	0,1573	**
<i>B*42</i>	1,65	2,46	0,6534	0,67
<i>B*44</i>	9,89	11,20	0,7421	0,88
<i>B*45</i>	0,00	2,19	0,0736	**
<i>B*48</i>	1,10	1,91	0,5987	0,57
<i>B*49</i>	1,65	2,46	0,6534	0,67
<i>B*50</i>	1,65	1,91	0,8727	0,86
<i>B*51</i>	5,49	9,29	0,2680	0,59
<i>B*52</i>	2,20	1,64	0,7571	1,33
<i>B*53</i>	2,75	3,55	0,7175	0,77
<i>B*55</i>	0,00	0,82	0,2733	**
<i>B*56</i>	1,65	0,27	0,2370	6,00
<i>B*57</i>	0,55	3,01	0,1316	0,18
<i>B*58</i>	8,24	1,91	0,0208*	4,29
<i>B*78</i>	1,10	0,27	0,4142	4,00
<i>B*81</i>	0,00	0,27	0,5271	**
<i>B*82</i>	0,00	0,27	0,5271	**

\*P < 0,05. Valor estatisticamente significativo.

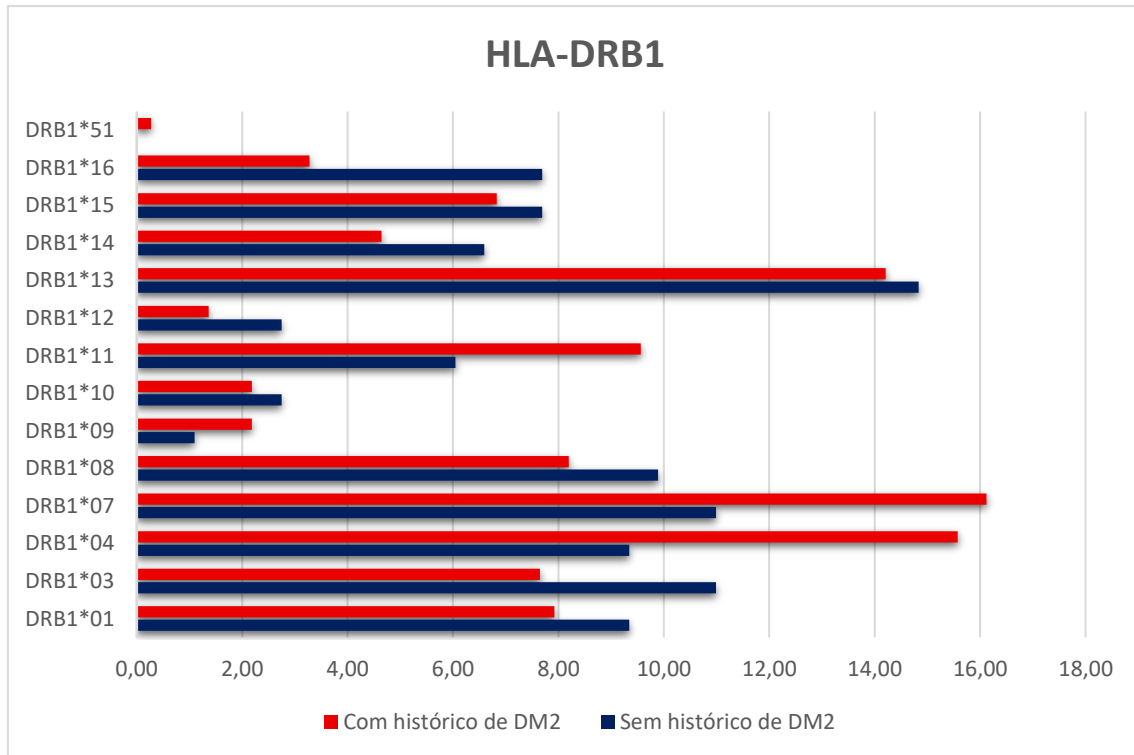
\*\* Não pode ser calculado, igual a zero ou não se aplica.

**Figura 6** - Distribuição alélica em porcentagem do locus HLA-B dentro do grupo de indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.



Quanto ao locus HLA-DRB1, apesar dos alelos HLA-DRB1\*03 e HLA-DRB1\*16 terem frequência aumentada no grupo dos sem histórico familiar de DM2 e os alelos HLA-DRB1\*04 e HLA-DRB1\*07 terem frequência maior no grupo dos com histórico familiar, não houve diferença estatisticamente significativa (Figura 7, Tabela 5).

**Figura 7** - Distribuição alélica em porcentagem do locus HLA-DRB1 dentro do grupo de indivíduos sem histórico de DM2 e com histórico de DM2.



**Tabela 5** - Frequência e valor de P dos alelos HLA-DRB1 dentro do grupo de indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar de DM2.

	Sem histórico familiar de DM2 (%)	Com histórico familiar de DM2 (%)	Valor de P (X <sup>2</sup> )	Odds Ratio
<i>DRB1*01</i>	9,34	7,92	0,7159	1,17
<i>DRB1*03</i>	10,99	7,65	0,3991	1,43
<i>DRB1*04</i>	9,34	15,57	0,1612	0,60
<i>DRB1*07</i>	10,99	16,12	0,2684	0,68
<i>DRB1*08</i>	9,89	8,20	0,6695	1,20
<i>DRB1*09</i>	1,10	2,19	0,5002	0,50
<i>DRB1*10</i>	2,75	2,19	0,7852	1,25
<i>DRB1*11</i>	6,04	9,56	0,3175	0,63
<i>DRB1*12</i>	2,75	1,37	0,4497	2,00
<i>DRB1*13</i>	14,84	14,21	0,9107	1,04
<i>DRB1*14</i>	6,59	4,64	0,5265	1,41
<i>DRB1*15</i>	7,69	6,83	0,8119	1,12
<i>DRB1*16</i>	7,69	3,28	0,1358	2,33
<i>DRB1*51</i>	0,00	0,27	0,5271	**

\*P < 0,05. Valor estatisticamente significativo.

\*\* Não pode ser calculado, igual a zero ou não se aplica.



Quando avaliada a tipificação dos locus HLA-A, -B e -DRB1 tanto entre os indivíduos com hemoglobina glicada normal e indivíduos com hemoglobina alterada ( $HbA1c \geq 6,5\%$  e indivíduos em zona de risco) quanto indivíduos com hemoglobina alterada no grupo dos sem histórico familiar de DM2 ([SHF]) e indivíduos com Hb1Ac alterada no grupo dos com histórico familiar ([CHF]) não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 6).

**Tabela 6** - Valor de P para análises de tipificação feitas entre indivíduos que possuem hemoglobina alterada e indivíduos com hemoglobina normal.

Grupos Avaliados		Valor de P
<b>HLA-A</b>	HbA1c alterada em [SHF] vs. HbA1c alterada em [CHF]	0,09324
	HbA1c alterada vs. HbA1c normal	0,71240
<b>HLA-B</b>	HbA1c alterada em [SHF] vs. HbA1c alterada em [CHF]	0,32098
	HbA1c alterada vs. HbA1c normal	0,84017
<b>HLA-DRB1</b>	HbA1c alterada em [SHF] vs. HbA1c alterada em [CHF]	0,64321
	HbA1c alterada vs. HbA1c normal	0,95111

\*P < 0,05. Valor estatisticamente significativo.

## 5 DISCUSSÃO

No presente trabalho, não houve diferença entre os valores de HbA1c entre o grupo sem histórico familiar de DM2 e com histórico familiar. Divergente aos relatos descritos na população de coreanos, no qual o histórico familiar de diabetes está associado a níveis elevados de HbA1c tanto em pessoas com diabetes quanto sem diabetes (LEE et al., 2018).

O mesmo aconteceu quando avaliado os fatores idade, tabagismo, inatividade física, consumo de alimentos calóricos, consumo de bebida alcoólica e pressão alta. Não foi encontrada diferença entre os grupos avaliados. Provavelmente, essas divergências não foram observadas porque o tamanho da amostra foi limitado para detectar diferenças estatísticas. Porém, em ZHANG et al. (2015), foram descritos o aumento das taxas de IMC, pressão arterial e alcoolismo em indivíduos com histórico familiar de diabetes.

HLA é um complexo gênico que tem sido associado a inúmeras patologias, incluindo Diabetes tipo 2. Na rede gênica mostrada na figura 8, os genes HLA-A, -B e -DRB1 estão interligados com genes já descritos para DM2 por interação física (5,05%), coexpressão (82,44%), interação genética (1,33%) e domínios proteicos compartilhados (11,19%). Comprovando a possível relação do HLA com Diabetes tipo 2.

No presente estudo foram encontradas diferenças significativas na frequência dos alelos HLA-B\*27 e HLA-B\*58 no grupo sem histórico familiar de DM2 quando comparado com o outro grupo (Tabela 4).

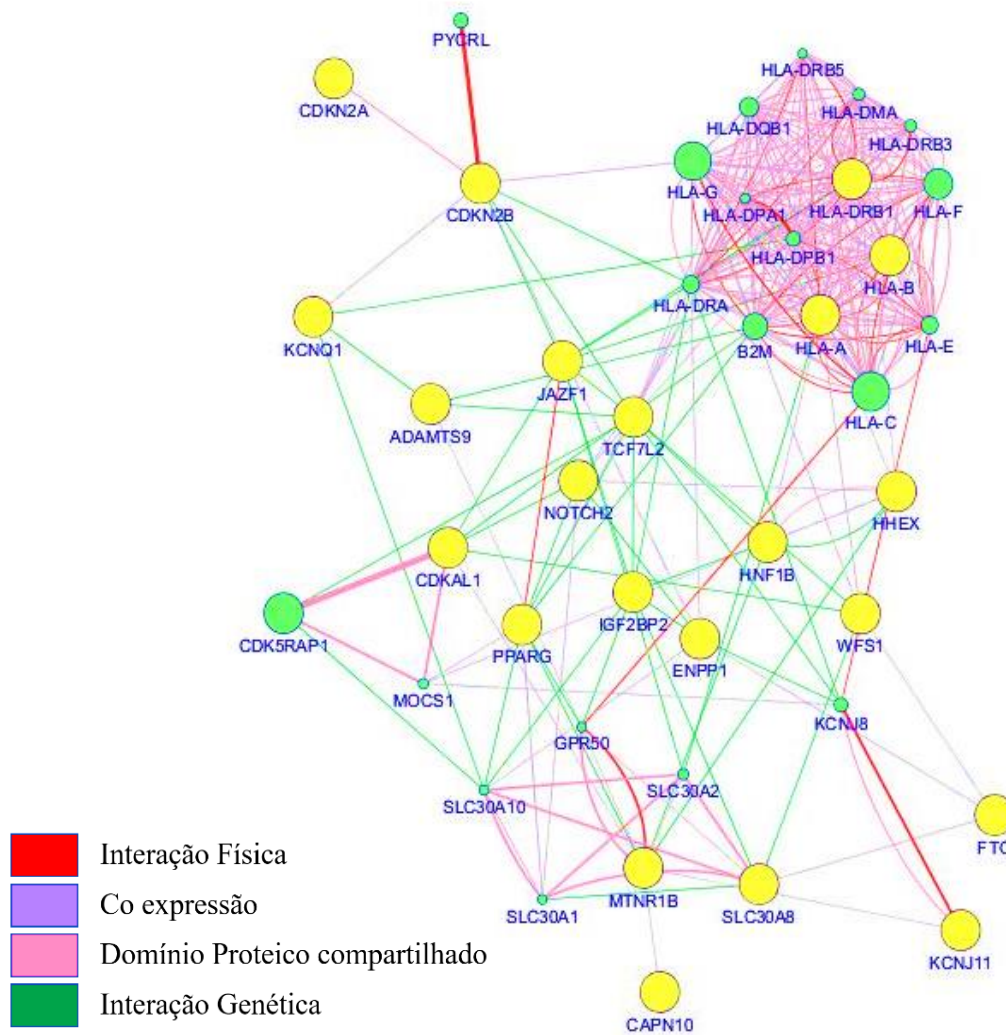
HLA-B\*27 já é conhecido como forte fator de risco para o desenvolvimento de Espondiloartrites (SpA) que envolve espondilite anquilosante, artrite reativa, artrite psoriásica, uveíte anterior aguda, artrite relacionada a entesite juvenil e espondiloartrite associada a colite, sugerindo que indivíduos que são B\*27 positivo possui um leve aumento de inflamação crônica e, conseqüentemente, estão suscetíveis a uma variedade de doenças isquêmicas e neoplásicas (BOWNESS, 2015).

Há um estudo de caso que relata o envolvimento de HLA-B27 em DM2, mas não a relação direta entre esses dois fatores. Esse trabalho foi realizado por LIN, ZHU e JIN (2018) no qual eles encontraram evidências que sugerem que o jejum prolongado induz doenças associadas a HLA-B\*27 em pacientes diabéticos, propondo ainda que essas doenças resultam do dobramento incorreto da molécula HLA-B\*27 induzido pelos distúrbios metabólicos do

jejum em diabéticos e pela falta de “fitness imunológico” associado a inflexibilidade metabólica do jejum.

Esses achados levam ao questionamento se realmente HLA-B\*27 pode atuar como marcador de proteção para DM2, apesar de ter apresentado frequência aumentada no grupo sem histórico.

**Figura 8** - Rede gênica de interação entre genes HLA e demais genes já descritos na literatura associados a Diabetes Mellitus tipo 2. Rede gerada pelo GeneMANIA® e visualizado pelo Cytoscape 3.6.0.



HLA-B\*58 foi descrito com alta frequência em pacientes com reação adversa cutânea severa (SCAR) a alopurinol - medicamento redutor de urato utilizado no tratamento de hiperuricemia, nefropatia aguda, formação de cálculos de ácido úrico e quimioterapia - em algumas populações, como de Chineses, Japoneses, Coreanos e Tailandeses (CHIU et al., 2012, NIIHARA et al., 2013, KANG et al., 2011, TASSANEEYAKUL et al, 2009). Além disso, é possível associá-lo a SCAR por desequilíbrio de ligação com polimorfismos de outros genes, como o gene PSORS1C1 (SAKSIT et al., 2017).

Esse mesmo alelo também já foi descrito com frequência elevada em diabéticos tipo 1 na população de chineses de Singapura (CHAN et al., 1995), amiloidose em pacientes renais terminal (KARAHAN et al., 2009), suscetibilidade a leucemia (MEHDIZADEH et al., 2013) e baixa viremia em indivíduos com HIV (STEPHENS, 2005). Não há relatos de HLA-B\*58 associado a DM2, porém no presente estudo este apresentou-se com frequência elevada em indivíduos sem histórico familiar de DM2 e com menor frequência em indivíduos com histórico familiar.

Neste trabalho o alelo HLA-B\*35 apresentou frequência aumentada no grupo de indivíduos com histórico familiar de DM2, mas não foi estatisticamente significativo. Na população de Xhosa (Negros Sul Americanos) a presença desse alelo ocorreu de forma semelhante (BRIGGS et al., 1980). Contudo, o alelo HLA-B\*35 já foi relacionado com DM2 em outras populações, como é o caso da população Iraquiana, onde esteve mais frequente em indivíduos diabéticos quando comparado com indivíduos saudáveis (MOHAMMED; NADER; AL-GHURABI, 2014).

Em diabéticos tipo 2 de Papua Nova Guiné houve maior frequência de HLA-B\*15 (Bw62) em indivíduos diabéticos (BHATIA; PATEL; GOROGO, 1984), discordante dos dados deste trabalho no qual a frequência desse alelo foi maior em indivíduos sem histórico familiar, porém sem diferença significativa.

Outros alelos dentro do locus HLA-B também já foram associados a DM2, como HLA-Bw41 e HLA-B\*12 na população de Negros Sul Americanos (BRIGGS et al., 1980) e HLA-Bw22 (HLA-Bw56) na população de Nauru (ilha isolada do Pacífico Central) quando comparado indivíduos diabéticos jovens (< 46 anos) e indivíduos não diabéticos mais velhos ( $\geq$  46 anos) acompanhado da diminuição de HLA-Bw62 que, por sua vez, apresentou frequência aumentada em indivíduos não diabéticos jovens (SERJEANTSON et al., 1983).

Dentro do locus HLA-A, o alelo HLA-A\*02 é bastante elevado na população do Maranhão segundo FERREIRA (2007), que investigou a variabilidade genética dos locos HLA-A, -B e -DRB1 na amostra de DVMO. Semelhante aos dados da atual pesquisa, onde A\*02 foi o mais frequente dentro do locus HLA-A, com frequência de 31,32% no grupo sem histórico familiar de DM2 e 25,68% no grupo com histórico (Tabela 3).

Quando comparada a presença de A\*02 entre os dois grupos, o mesmo apresentou maior frequência no grupo sem histórico familiar, porém a diferença não foi estatisticamente significativa. Oposto aos resultados encontrados na população de Xhosa, de Iraquianos e na população de índios Pima, no qual este alelo esteve mais frequente em diabéticos (BRIGGS et al., 1980; WILLIAMS et al., 1981; MOHAMMED; NADER; AL-GHURABI, 2014).

Em relação ao locus HLA-DRB1, no presente trabalho, não houve diferença significativa dos alelos entre os dois grupos avaliados. Porém, há estudos que comprovam a relação entre esse locus e DM2. Na população de Pima, por exemplo, foi identificada relação de proteção de HLA-DRB1\*02 contra DM2, no qual indivíduos que são DRB1\*02 positivos apresentam baixo nível de anti-GAD e secreção insulínica aumentada em resposta a glicose oral e intravenosa (WILLIAMS et al., 2011).

Na população maranhense o alelo DRB1\*02 é raro. Não foi encontrado na amostra de DVMO da presente pesquisa, o que está de acordo com o trabalho de FERREIRA (2007), que encontrou frequência de apenas 0.13% dentro de uma amostra de 1.151 doadores.

Há outros alelos dentro deste locus que também são associados a doença. Na população Iraquiana os alelos DRB1\*1137, DRB1\*0401, DRB1\*1306, por exemplo, são mais frequentes em indivíduos diabéticos, enquanto DRB1\*0701 e DRB1\*1601 são mais presentes nos indivíduos saudáveis (MOHAMMED; NADER; AL-GHURABI, 2014).

Na população Indiana, DRB1\* 15 e HLA –DRB1\* 03 tiveram alta frequência em DM2, constituindo um alelo de risco, enquanto DRB1\* 07 constitui um possível alelo de proteção (PRABHAVATHI et al., 2012). Em Árabes Baremitas a frequência de DRB1\*040101 foi aumentada nos diabéticos, porém ao contrário dos Indianos e Iraquianos o alelo DRB1\*070101 também esteve frequente em diabéticos (MOTALA et al., 2005). E assim como iraquianos, paquistaneses diabéticos possuem alta frequência de DRB1\*13 (TIPU; AHMED; BASHIR, 2011).

Em um trabalho realizado com mexicanos miscigenados (“pool” genético tri-racial: índios nativos, espanhóis e descendentes africanos), DRB1\*07 apresentou frequência diminuída em indivíduos com histórico familiar de diabetes quando comparado com os sem histórico. No mesmo estudo, DRB1\*03 também apresentou frequência reduzida em indivíduos diabéticos quanto comparado com indivíduos saudáveis sem histórico familiar. Desta forma, ambos os alelos são preditos como fator de proteção para a doença (PEREZ-LUQUE et al., 2003).

No presente trabalho, DRB1\*04 esteve mais frequente em indivíduos com histórico familiar de DM2, assim como em diabéticos iraquianos. DRB1\*07 também esteve mais frequente em indivíduos com histórico familiar, assim como diabéticos Árabes e oposto ao grupo dos com histórico familiar em mexicanos, no qual este alelo obteve frequência diminuída. Em indianos, DRB1\*03 esteve mais presente em diabéticos, discordante deste estudo no qual este alelo apresentou frequência maior em indivíduos sem histórico familiar. Apesar desses alelos estarem mais frequente em um grupo ou outro, essa diferença não foi estatisticamente significativa.

Em Diabetes tipo 2, o locus HLA-DRB1 é o mais associado a patologia. Sendo que este desempenha papel essencial na apresentação de antígenos, incluindo auto antígenos durante a cascata de ativação das células T (MOTALA et al., 2005).

A capacidade da molécula de HLA de influenciar a suscetibilidade a doenças está intimamente relacionada com sua estrutura tridimensional e conseqüentemente a sua função. A diferença entre a afinidade de ligação de moléculas diabetogênicas e protetoras e a estabilidade de distintos peptídeos da molécula HLA pode interagir de forma diferenciada com autoantígeno diabetogênico e, portanto, conferir suscetibilidade ou proteção a doença (PRABHAVATHI et al., 2012).

As diferentes frequências do genótipo HLA associado a proteção/suscetibilidade a DM2 em diversas populações é esperada, já que se trata de um gene altamente polimórfico e que varia entre grupos étnicos e populacionais (TIPU; AHMED; BASHIR, 2011, MA et al., 2013). Portanto, os estudos de diversidade alélica contribuem tanto na identificação de novas associações entre os antígenos de histocompatibilidade e Diabetes tipo 2, quanto reforça as relações já existentes (DONADI, 2000).

## 6 CONCLUSÃO

- Foi investigado a presença de polimorfismos de alelo HLA em DVMOs do Maranhão e comparados com outras populações.
- Os alelos HLA-B\*27 e HLA-B\*58 tiveram frequências estatisticamente significativa no grupo sem histórico familiar de DM2.
- Não foi observada relação de suscetibilidade de desenvolvimento de diabetes tipo 2 na população estudada.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

São necessárias pesquisas com um número amostral maior para que a relação entre HLA e indivíduos com histórico familiar de diabetes seja melhor representada.

É importante ter mais estudos com populações miscigenadas para que a comparação dos dados se torne mais fidedigna a respeito da suscetibilidade a Diabetes Mellitus tipo 2 e os genes HLA.



## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. H. I. V. – Complexo de Histocompatibilidade Principal. In: Abbas, Lichtman, Pillai. *Imunologia Celular e Molecular*. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2012, p.117-125
- ABDELHAMID, I. et al. E23K variant in KCNJ11 gene is associated with susceptibility to type 2 diabetes in the Mauritanian population. **population**, v. 3, p. 4, 2013.
- AHLQVIST, E.; AHLUWALIA, T.S.; GROOP, L. Genetics of type 2 diabetes. **Clinical chemistry**, v. 57, n. 2, p. 241-254, 2011.
- ALLELE CODE LISTS. Disponível em: <<https://bioinformatics.bethematchclinical.org/HLA-Resources/Allele-Codes/Allele-Code-Lists/>>. Acesso em 11 de maio de 2018.
- ALPER, C. A. et al. The haplotype structure of the human major histocompatibility complex. **Human immunology**, v. 67, n. 1-2, p. 73-84, 2006.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes care**, v. 37, n. Supplement 1, p. S81-S90, 2014.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Facts about Type 2. 2015. <<http://www.diabetes.org/diabetes-basics/type-2/facts-about-type-2.html>>. Acesso em 24 de maio de 2018.
- ARAUJO, L. M. B. et al. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 6, p. 509-518, 2000.
- BAO, X. Y.; XIE, C.; YANG, M. S. Association between type 2 diabetes and CDKN2A/B: a meta-analysis study. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 2, p. 1609-1616, 2012.
- BERGHOLDT, R. et al. Integrative analysis for finding genes and networks involved in diabetes and other complex diseases. **Genome biology**, v. 8, n. 11, p. R253, 2007.
- BERMUDEZ, V. et al. PPAR- $\gamma$  agonists and their role in type 2 diabetes mellitus management. **American journal of therapeutics**, v. 17, n. 3, p. 274-283, 2010.
- BHATIA, K.; PATEL, M.; GOROGO, M. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and HLA antigens in Papua New Guinea. **Diabetologia**, v. 27, n. 3, p. 370-372, 1984.
- BI, P.; KUANG, S. Notch signaling as a novel regulator of metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 26, n. 5, p. 248-255, 2015.
- BILLINGS, L. K.; FLOREZ, J. C. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS?. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1212, n. 1, p. 59-77, 2010.

BLOMHOFF, A. et al. A. Linkage disequilibrium and haplotype blocks in the MHC vary in an HLA haplotype specific manner assessed mainly by DRB1\* 03 and DRB1\* 04 haplotypes. **Genes and immunity**, v. 7, n. 2, p. 130, 2006.

BOESGAARD, T. W. et al. Variant near ADAMTS9 known to associate with type 2 diabetes is related to insulin resistance in offspring of type 2 diabetes patients—EUGENE2 study. **PLoS One**, v. 4, n. 9, p. e7236, 2009.

BOUATIA-NAJI, N. et al. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. **Nature genetics**, v. 41, n. 1, p. 89, 2009.

BOWNESS, P. HLA-B27. **Annual review of immunology**, v. 33, p. 29-48, 2015.

BRIGGS, B. R. et al. The histocompatibility (HLA) antigen distribution in diabetes in Southern African Blacks (Xhosa). **Diabetes**, v. 29, n. 1, p. 68-70, 1980.

BROWN, A. E.; YEAMAN, S. J.; WALKER, M. Targeted suppression of calpain-10 expression impairs insulin-stimulated glucose uptake in cultured primary human skeletal muscle cells. **Molecular genetics and metabolism**, v. 91, n. 4, p. 318-324, 2007.

BRYANT, N. J.; GOVERS, R.; JAMES, D. E. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 3, n. 4, p. 267, 2002.

BUTLER, A. E. et al.  $\beta$ -cell deficit and increased  $\beta$ -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 52, n. 1, p. 102-110, 2003.

CABRERA, O. et al. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 7, p. 2334-2339, 2006.

CARMECINI, TF; NUCCI, LB. Prevalência de diabetes mellitus tipo 2 no Brasil: Revisão bibliográfica. **Anais do XVII Encontro de Iniciação Científica da PUC Campinas**. 2012

CARRERA B.C.A.; MARTÍNEZ-MORENO, J. M. Current medical treatment of diabetes type 2 and long term morbidity: how to balance efficacy and safety?. **Nutrición hospitalaria**, v. 28, n. 2, 2013.

CHAN, S. H. et al. Influence of gender and age at onset on the HLA associations in Chinese with insulin-dependent diabetes mellitus. **Human immunology**, v. 44, n. 3, p. 175-180, 1995.

CHENG, L. et al. Association between SLC30A8 rs13266634 polymorphism and type 2 diabetes risk: a meta-analysis. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 21, p. 2178, 2015.

CHENG, S. et al. Association of rs734312 and rs10010131 polymorphisms in WFS1 gene with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. **Endocrine journal**, v. 60, n. 4, p. 441-447, 2013.

CHIU, M. L. S. et al. Association between HLA-B\* 58: 01 allele and severe cutaneous adverse reactions with allopurinol in Han Chinese in Hong Kong. **British Journal of Dermatology**, v. 167, n. 1, p. 44-49, 2012.

CHOO, S. Y. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. **Yonsei medical journal**, v. 48, n. 1, p. 11-23, 2007.

CHRISTOPHER, B. Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and  $\beta$ -cell failure in type 2 diabetes. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 9, p. 193-205, 2008.

COSTANZO, B. V. et al. The Q allele variant (GLN121) of membrane glycoprotein PC-1 interacts with the insulin receptor and inhibits insulin signaling more effectively than the common K allele variant (LYS121). **Diabetes**, v. 50, n. 4, p. 831-836, 2001.

DEFRONZO, R. A. et al. Type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, p. 15019-15019, 2015.

DIAMOND, J. The double puzzle of diabetes. **Nature**, v. 423, n. 6940, p. 599, 2003.

DONADI, E. A. Como Entender A Nomenclatura E Os Mecanismos De Associação Entre Os Antígenos E Os Alelos De Histocompatibilidade Com As Doenças. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 33, n. 1, p. 7-18, 2000.

DOU, H. et al. The association between gene polymorphism of TCF7L2 and type 2 diabetes in Chinese Han population: a meta-analysis. **PLoS one**, v. 8, n. 3, p. e59495, 2013.

DUESING, K. et al. Strong association of common variants in the CDKN2A/CDKN2B region with type 2 diabetes in French Europeans. **Diabetologia**, v. 51, n. 5, p. 821-826, 2008.

DUNN, M. F. Zinc–ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer—a review. **Biomaterials**, v. 18, n. 4, p. 295-303, 2005.

EL ACHHAB, Y. et al. Association of the ENPP1 K121Q polymorphism with type 2 diabetes and obesity in the Moroccan population. **Diabetes & metabolism**, v. 35, n. 1, p. 37-42, 2009.

FAGBEMI, K. A. et al. HLA Class II Allele, Haplotype, and Genotype Associations with Type 1 Diabetes in Benin: A Pilot Study. **Journal of diabetes research**, v. 2017, 2017.

FERREIRA, F. L. Polimorfismo Genético do Sistema HLA em uma amostra de Doadores Voluntários de Medula Óssea do Maranhão. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, p.140. 2007.

FISCHER, J. et al. Inactivation of the Fto gene protects from obesity. **Nature**, v. 458, n. 7240, p. 894, 2009.

FRANKS, P. W. et al. Replication of the association between variants in WFS1 and risk of type 2 diabetes in European populations. **Diabetologia**, v. 51, n. 3, p. 458-463, 2008.

FRIDLAND, L. E.; JACOBSON, D. A.; PHILIPSON, L. H. Ion channels and regulation of insulin secretion in human  $\beta$ -cells: a computational systems analysis. **Islets**, v. 5, n. 1, p. 1-15, 2013.

- GARANT, M. J. et al. SNP43 of CAPN10 and the risk of type 2 diabetes in African-Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Diabetes**, v. 51, n. 1, p. 231-237, 2002.
- GLOYN, A. L. et al. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic  $\beta$ -cell KATP channel subunits Kir6. 2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 52, n. 2, p. 568-572, 2003.
- GODA, N. et al. Polymorphism in microRNA-binding site in HNF1B influences the susceptibility of type 2 diabetes mellitus: a population based case-control study. **BMC medical genetics**, v. 16, n. 1, p. 75, 2015.
- GRESS, T. W. et al. Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 13, p. 905-912, 2000.
- GROENEWOUD, M. J. et al. Variants of CDKAL1 and IGF2BP2 affect first-phase insulin secretion during hyperglycaemic clamps. **Diabetologia**, v. 51, n. 9, p. 1659-1663, 2008.
- GROSS, J. L. et al. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 1, p. 16-26, 2002.
- GUO, C. C. et al. The relationships between HLA class II alleles and antigens with gestational diabetes mellitus: A meta-analysis. **Scientific reports**, v. 6, p. 35005, 2016.
- HAGHVIRDIZADEH, P. et al. KCNJ11: genetic polymorphisms and risk of diabetes mellitus. **Journal of diabetes research**, v. 2015, 2015.
- HERTEL, J. K. H. et al. Type 2 diabetes genes—Present status and data from Norwegian studies. **Norsk epidemiologi**, v. 23, n. 1, 2013.
- HERTEL, J. K. et al. FTO, type 2 diabetes, and weight gain throughout adult life: a meta-analysis of 41,504 subjects from the Scandinavian HUNT, MDC, and MPP studies. **Diabetes**, v. 60, n. 5, p. 1637-1644, 2011.
- HORTON, R. et al. Variation analysis and gene annotation of eight MHC haplotypes: the MHC Haplotype Project. **Immunogenetics**, v. 60, n. 1, p. 1-18, 2008.
- HOWELL, W. M.; CARTER, V.; CLARK, B. The HLA system: immunobiology, HLA typing, antibody screening and crossmatching techniques. **Journal of clinical pathology**, v. 63, n. 5, p. 387-390, 2010.
- HUANG, Z. Q. et al. Possible role of TCF7L2 in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, p. 1-5, 2018.
- INOUE, H. et al. A gene encoding a transmembrane protein is mutated in patients with diabetes mellitus and optic atrophy (Wolfram syndrome). **Nature genetics**, v. 20, n. 2, p. 143, 1998.
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas, 2017. Disponível em: <[www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org)>. Acessado em 10 de abril de 2018.

INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. **Diabetes care**, 32(7), 1327-1334, 2009.

IPD-IMGT/HLA Database. Disponível em: <<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html>>. Acesso em 11 de maio de 2018.

JENSEN, D. P. et al. Variation in CAPN10 in relation to type 2 diabetes, obesity and quantitative metabolic traits: studies in 6018 whites. **Molecular genetics and metabolism**, v. 89, n. 4, p. 360-367, 2006.

JERRAM, S.T.; LESLIE, R. D. The Genetic Architecture of Type 1 Diabetes. **Genes**, v. 8, n. 8, p. 209, 2017.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 840, 2006.

KAHN, S. E.; COOPER, M. E.; DEL PRATO, S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. **The Lancet**, v. 383, n. 9922, p. 1068-1083, 2014.

KANG, H. R. et al. Positive and negative associations of HLA class I alleles with allopurinol-induced SCARs in Koreans. **Pharmacogenetics and genomics**, v. 21, n. 5, p. 303-307, 2011.

KARAHAN, G. E. et al. Impact of HLA on the underlying primary diseases in Turkish patients with end-stage renal disease. **Renal failure**, v. 31, n. 1, p. 44-49, 2009.

KLEIN, J. A. N.; SATO, A. The HLA system. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 10, p. 702-709, 2000.

KOHEI, K. A. K. U. Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. **JMAJ**, 53(1), 41, 2010.

KONG, Y. et al. C. Islet biology, the CDKN2A/B locus and type 2 diabetes risk. **Diabetologia**, v. 59, n. 8, p. 1579-1593, 2016.

KOO, B. K. et al. Polymorphisms of KCNJ11 (Kir6. 2 gene) are associated with type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. **Diabetic Medicine**, v. 24, n. 2, p. 178-186, 2007.

LASRAM, K. et al. Evidence for association of the E23K variant of KCNJ11 gene with type 2 diabetes in Tunisian population: population-based study and meta-analysis. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

LEE, J. E. et al. Impact of ENPP1 and MMP3 gene polymorphisms on aortic calcification in patients with type 2 diabetes in a Korean population. **Diabetes research and clinical practice**, v. 88, n. 1, p. 87-96, 2010.

LEE, Y. H. et al. Effect of Family History of Diabetes on Hemoglobin A1c Levels among Individuals with and without Diabetes: The Dong-gu Study. **Yonsei medical journal**, v. 59, n. 1, p. 92-100, 2018.

- LI, H. et al. Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. **Diabetologia**, v. 55, n. 4, p. 981-995, 2012.
- LI, Y. Y. et al. CDKAL1 gene rs7756992 A/G polymorphism and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 62,567 subjects. **Scientific reports**, v. 3, p. 3131, 2013.
- LI, Y. Y.. ENPP1 K121Q polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese population: a meta-analysis including 11 855 subjects. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 61, n. 5, p. 625-633, 2012.
- LIN, H. V.; ACCILI, D. Hormonal regulation of hepatic glucose production in health and disease. **Cell metabolism**, v. 14, n. 1, p. 9-19, 2011.
- LIN, Z.; ZHU, B.; JIN, X. Onset of HLA-B27-associated diseases in diabetic patient during a period of religious fasting: A case report. **Medicine**, v. 97, n. 11, 2018.
- LIU, Z. et al. Association analysis of 30 type 2 diabetes candidate genes in Chinese Han population. **Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae**, v. 28, n. 2, p. 124-128, 2006.
- LUO, Y. et al. Meta-analysis of the association between SNPs in TCF7L2 and type 2 diabetes in East Asian population. **Diabetes research and clinical practice**, v. 85, n. 2, p. 139-146, 2009.
- LYSSENKO, V. et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. **Nature genetics**, v. 41, n. 1, p. 82, 2009.
- MA, Q. et al. Association Between KCNQ1 Genetic Variants and Type 2 Diabetes in the Uyghur Population. **Genetic testing and molecular biomarkers**, v. 19, n. 12, p. 698-702, 2015.
- MA, Z. J. et al. Association of the HLA-DQA1 and HLA-DQB1 alleles in type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy in the Han ethnicity of China. **Experimental Diabetes Research**, v. 2013, 2013.
- MAGALHÃES, P. S. C.; BÖHLKE, M.; NEUBARTH, F. Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC): codificação genética, bases estruturais e implicações clínicas. **Rev. Med. UCPEL (Pelotas)**, v. 2, n. 5, p. 59, 2004.
- MARSH, S.G.E. et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. **Tissue antigens**, v. 75, n. 4, p. 291-455, 2010.
- MEHDIZADEH, M. et al. The association of HLA-A,-B gene polymorphisms with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in Iranian patients. **Journal of Biology**, v. 2, n. 6, p. 324-329, 2013.
- MEYRE, D. et al. ENPP1 K121Q polymorphism and obesity, hyperglycaemia and type 2 diabetes in the prospective DESIR Study. **Diabetologia**, v. 50, n. 10, p. 2090-2096, 2007.

MEZZA, T. et al. Insulin resistance alters islet morphology in nondiabetic humans. **Diabetes**, v. 63, n. 3, p. 994-1007, 2014.

MOHAMMED, A. K.; NADER, M. I.; AL-GHURABI, B. H. Genotyping of HLA Class I and II Molecules in Type 2 Diabetic Iraqi Patients. **Journal of Dental and Medical Sciences**, v. 13, n. 4, p. 44-48, 2014.

MOSAAD, Y. M. Clinical role of human leukocyte antigen in health and disease. **Scandinavian journal of immunology**, v. 82, n. 4, p. 283-306, 2015.

MOTALA, A. A. et al. Susceptible and protective human leukocyte antigen class II alleles and haplotypes in Bahraini type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus patients. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 12, n. 1, p. 213-217, 2005.

NCSS 12 Statistical Software. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, [ncss.com/software/ncss](http://ncss.com/software/ncss). 2018.

NEPOM, G. T.; ERLICH, H. MHC class-II molecules and autoimmunity. **Annual review of immunology**, v. 9, n. 1, p. 493-525, 1991.

NIIHARA, H. et al. HLA-B\* 58: 01 strongly associates with allopurinol-induced adverse drug reactions in a Japanese sample population. **Journal of dermatological science**, v. 71, n. 2, p. 150-152, 2013.

NIKITIN, A. G. et al. Association of FTO, KCNJ11, SLC30A8, and CDKN2B polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. **Molecular Biology**, v. 49, n. 1, p. 103-111, 2015.

OGURTSOVA, K. et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. **Diabetes research and clinical practice**, v. 128, p. 40-50, 2017.

OMORI, S. et al. Replication study for the association of new meta-analysis-derived risk loci with susceptibility to type 2 diabetes in 6,244 Japanese individuals. **Diabetologia**, v. 52, n. 8, p. 1554-1560, 2009.

PASS 15 Power Analysis and Sample Size Software. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, [ncss.com/software/pass](http://ncss.com/software/pass). 2017.

PEREZ-LUQUE, E. et al. Protective effect of DRB1 locus against type 2 diabetes mellitus in Mexican Mestizos. **Human immunology**, v. 64, n. 1, p. 110-118, 2003.

PHANI, N. M. et al. S.Implications of critical PPAR $\gamma$ 2, ADIPOQ and FTO gene polymorphisms in type 2 diabetes and obesity-mediated susceptibility to type 2 diabetes in an Indian population. **Molecular genetics and genomics**, v. 291, n. 1, p. 193-204, 2016.

POLL, A. V. et al. A vHNF1/TCF2-HNF6 cascade regulates the transcription factor network that controls generation of pancreatic precursor cells. **Diabetes**, v. 55, n. 1, p. 61-69, 2006.

PONTAROLO, R. et al. T Pharmacological Treatments for Type 2 Diabetes. In: **Treatment of Type 2 Diabetes**. InTech, 2015.

- PRABHAVATHI, P. et al. Extensive studies on polymerase chain reaction-sequence-specific primers (PCR-SSP) based HLA-DRB1\* allele profiling in non insulin dependent diabetes mellitus (Indian population). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 10, p. 685-691, 2012.
- PRASAD, R. B.; GROOP, L. Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. **Genes**, v. 6, n. 1, p. 87-123, 2015.
- PRENTKI, M. New insights into pancreatic  $\beta$ -cell metabolic signaling in insulin secretion. **European Journal of Endocrinology**, v. 134, n. 3, p. 272-286, 1996.
- PRENTKI, M.; NOLAN, C. J. Islet  $\beta$  cell failure in type 2 diabetes. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 7, p. 1802-1812, 2006.
- RAO, P. et al. Association between IGF2BP2 polymorphisms and type 2 diabetes mellitus: a case-control study and meta-analysis. **International journal of environmental research and public health**, v. 13, n. 6, p. 574, 2016.
- RIDDERSTRÅLE, M.; NILSSON, E. Type 2 diabetes candidate gene CAPN10: first, but not last. **Current hypertension reports**, v. 10, n. 1, p. 19-24, 2008.
- RÖNN, T. et al. A common variant in MTNR1B, encoding melatonin receptor 1B, is associated with type 2 diabetes and fasting plasma glucose in Han Chinese individuals. **Diabetologia**, v. 52, n. 5, p. 830-833, 2009.
- SAKO, Y.; GRILL, V. E. A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B cell oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation. **Endocrinology**, v. 127, n. 4, p. 1580-1589, 1990.
- SAKSIT, N. et al. Comparison between the HLA-B58: 01 Allele and Single-Nucleotide Polymorphisms in Chromosome 6 for Prediction of Allopurinol-Induced Severe Cutaneous Adverse Reactions. **Journal of Immunology Research**, v. 2017, 2017.
- SANDOR, C.; BEER, N. L.; WEBBER, C. Diverse type 2 diabetes genetic risk factors functionally converge in a phenotype-focused gene network. **PLoS computational biology**, v. 13, n. 10, p. e1005816, 2017.
- SCHÄFER, C.; SCHMIDT, A. H.; SAUTER, J.. Hapl-o-Mat: open-source software for HLA haplotype frequency estimation from ambiguous and heterogeneous data. **BMC bioinformatics**, v. 18, n. 1, p. 284, 2017.
- SCHEEN, A. J. Pathophysiology of type 2 diabetes. **Acta Clinica Belgica**, v. 58, n. 6, p. 335-341, 2003.
- SCOTT, L. J. et al. Association of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) variants with type 2 diabetes in a Finnish sample. **diabetes**, v. 55, n. 9, p. 2649-2653, 2006.
- SCOTT, R.A et al. The link between family history and risk of type 2 diabetes is not explained by anthropometric, lifestyle or genetic risk factors: the EPIC-InterAct study. **Diabetologia**, v. 56, n. 1, p. 60-9, 2013.



SERJEANTSON, S. W. et al. Genetics of diabetes in Nauru: effects of foreign admixture, HLA antigens and the insulin-gene-linked polymorphism. **Diabetologia**, v. 25, n. 1, p. 13-17, 1983.

SIM, S. Y. et al. Polycystic ovary syndrome in type 2 diabetes: does it predict a more severe phenotype?. **Fertility and sterility**, v. 106, n. 5, p. 1258-1263, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015–2016). **Sao Paulo: AC Farmacêutica**, 2016.

SPARSØ, T. et al. G-allele of intronic rs10830963 in MTNR1B confers increased risk of impaired fasting glycemia and type 2 diabetes through an impaired glucose-stimulated insulin release: studies involving 19,605 Europeans. **Diabetes**, v. 58, n. 6, p. 1450-1456, 2009.

STEPHENS, H.A.F. HIV-1 diversity versus HLA class I polymorphism. **Trends in immunology**, v. 26, n. 1, p. 41-47, 2005.

TANGVARASITTICHAJ, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. **World journal of diabetes**, v. 6, n. 3, p. 456, 2015.

TASSANEEYAKUL, W. et al. Strong association between HLA-B\* 5801 and allopurinol-induced Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in a Thai population. **Pharmacogenetics and genomics**, v. 19, n. 9, p. 704-709, 2009.

TIPU, H. N.; AHMED, T. A.; BASHIR, M. M. Human leukocyte antigen class II susceptibility conferring alleles among non-insulin dependent diabetes mellitus patients. **J. Coll. Phys. Surg. Pak**, v. 21, p. 26-9, 2011.

VAN HOEK, M. et al. Predicting type 2 diabetes based on polymorphisms from genome-wide association studies: a population-based study. **Diabetes**, v. 57, n. 11, p. 3122-3128, 2008.

VAN VLIET-OSTAPTCHOUK, J. V. et al. HHEX gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes in the Dutch Breda cohort. **European Journal of Human Genetics**, v. 16, n. 5, p. 652, 2008.

WANG, C. et al. Common variants of hepatocyte nuclear factor 1 $\beta$  are associated with type 2 diabetes in a Chinese population. **Diabetes**, v. 58, n. 4, p. 1023-1027, 2009.

WILLIAMS, R. C. et al. HLA-A2 and type 2 (insulin independent) diabetes mellitus in Pima Indians: an association of allele frequency with age. **Diabetologia**, v. 21, n. 5, p. 460-463, 1981.

WILLIAMS, R. C. et al. HLA-DRB1 reduces the risk of type 2 diabetes mellitus by increased insulin secretion. **Diabetologia**, v. 54, n. 7, p. 1684-1692, 2011.

WINCKLER, W. et al. Evaluation of common variants in the six known maturity-onset diabetes of the young (MODY) genes for association with type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 56, n. 3, p. 685-693, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diabetes. **World Health Organization**, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation.** World Health Organization, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global report on diabetes.** World Health Organization, 2016.

WU, Y. et al. Common variants in CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8, and HHEX/IDE genes are associated with type 2 diabetes and impaired fasting glucose in a Chinese Han population. **Diabetes**, v. 57, n. 10, p. 2834-2842, 2008.

XIANG, J. et al. Zinc transporter-8 gene (SLC30A8) is associated with type 2 diabetes in Chinese. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 10, p. 4107-4112, 2008.

XIAO, S. et al. Correlation between polymorphism of FTO gene and type 2 diabetes mellitus in Uygur people from northwest China. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 6, p. 9744, 2015.

XU, J.; WANG, J.; CHEN, B. SLC30A8 (ZnT8) variations and type 2 diabetes in the Chinese Han population. **Genet Mol Res**, v. 11, n. 2, p. 1592-1598, 2012.

ZACCARDI, F. et al. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. **Postgraduate medical journal**, p. postgradmedj-2015-133281, 2015.

ZDROJOWY-WELNA, A. et al. The role of fat mass and obesity-associated gene (FTO) in obesity—an overview. **Endokrynologia Polska**, v. 65, n. 3, p. 224-231, 2014.

ZHANG, J. et al. Association between family history risk categories and prevalence of diabetes in Chinese population. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0117044, 2015.

ZHANG, X. et al. Association of single nucleotide polymorphisms in TCF2 with type 2 diabetes susceptibility in a Han Chinese population. **PloS one**, v. 7, n. 12, p. e52938, 2012.

ZHOU, Y. P. et al. A 48-hour exposure of pancreatic islets to calpain inhibitors impairs mitochondrial fuel metabolism and the exocytosis of insulin. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 52, n. 5, p. 528-534, 2003.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Projeto:** Associação de genes HLA em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2

**Coordenador:** Dr. Marcelo Souza de Andrade

**Instituição de Execução:** Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA)

Por este documento, você está sendo convidado a participar de uma pesquisa chamada “Associação de genes HLA em indivíduos com histórico familiar de Diabetes Mellitus tipo 2”. Com o objetivo de verificar associação de genes HLA em indivíduos com Diabetes tipo 2 dentro da população de doadores voluntários de medula óssea do Maranhão.

Você não é obrigado a aceitar, a sua participação é totalmente voluntária e caso não queira, não terá prejuízo algum em seu tratamento. Este projeto seguirá todas as recomendações determinadas pelo comitê de ética em pesquisa do HUUFMA. Os Comitês de Ética em Pesquisa são colegiados interdisciplinares e independentes, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criados para garantir a proteção dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

#### PARTICIPAÇÃO DO DOADOR VOLUNTÁRIO DE MEDULA (PARTICIPANTE)

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que estudará quais genes alelos do seu sistema HLA podem estar associados ao diabetes tipo II. Solicitamos que você doe um pouco de sangue (aproximadamente uma colher de sopa = 10cc). Este sangue será usado para fazer os exames de avaliação genética e investigar os possíveis alelos associados a patologia. No dia da doação do tubo de sangue, você poderá ingerir sua dieta normalmente. Nós faremos a assepsia do seu braço com álcool e em seguida usaremos o torniquete. Nós coletaremos sangue do seu braço, utilizando técnica estéril/limpa e seringa descartável, portanto não precisa se preocupar. Você também será convidado (a) a responder um questionário e permitir a realização de exames de hemoglobina glicada. Onde será coletado apenas a doação de dois tubos de 4ml de sangue.

## RISCOS E DESCONFORTOS

- Os riscos apresentados por esta pesquisa são muito baixos e está associado apenas à coleta de sangue. No momento da coleta poderá haver alguma dor no local de introdução da agulha. Esse desconforto é momentâneo e normalmente desaparece após remoção da agulha da veia do participante. Na rotina laboratorial, as complicações decorrentes de coleta sanguínea são infrequentes e geralmente caracterizam-se por pequenos sangramentos e formação de hematomas (pequenas manchas na pele) locais que normalmente desaparecem em poucos dias.
- A coleta será realizada por profissionais habilitados conforme as recomendações de boas práticas laboratoriais ([NIT-DICLA-035 - Princípios das Boas Práticas de Laboratório](#)).
- A fim de evitar constrangimento, e permitir conforto ao participante, durante o preenchimento dos formulários da entrevista, o participante será encaminhado a uma sala reservada para que as informações prestadas sejam restritas ao pesquisador e ao participante da pesquisa.

## GARANTIAS AO PARTICIPANTE DA PESQUISA

O segredo e a privacidade dos dados e materiais coletados serão guardados no Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade (LEGH). As amostras de sangue e DNA serão armazenadas em câmara fria durante cinco anos e após esse período serão descartados de acordo com as normas de biossegurança da legislação vigente. Os dados laboratoriais serão armazenados em arquivos restritos do LEGH.

- Os dados coletados e resultados obtidos no estudo serão utilizados apenas pelos pesquisadores envolvidos no mesmo e somente para fins científicos, resguardando, no entanto, os interesses dos participantes da pesquisa, que terão suas identidades e individualidades preservadas em absoluto sigilo.
- Acesso aos dados genéticos produzidos e o direito de retirá-los do banco do laboratório LEGH a qualquer momento, avisando os pesquisadores responsáveis.
- A participação nesse estudo não gerará despesas ao participante. Pois as coletas serão feitas no HEMOMAR. E os demais materiais utilizados e exames a serem realizados

serão custeados pelos pesquisadores. O participante não terá nenhum tipo de retribuição pecuniária ou de qualquer natureza pela sua participação.

- O participante desse estudo terá liberdade de retirar-se da pesquisa em qualquer fase desta sem que isso traga prejuízo ao seu cuidado.
- Caso seja do interesse da equipe de pesquisa realizar outras investigações utilizando estas amostras, será feito novo contato para sua concessão, ou não, mediante assinatura de outro termo de consentimento referente ao eventual novo estudo. O material armazenado só será utilizado em estudos futuros caso haja aprovação do novo projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Presidente Dutra ou pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.
- A realização de perguntas ou o esclarecimento de dúvidas acerca da pesquisa poderão ser feitos durante e após a realização da mesma por meio do contato, em horário comercial, com o pesquisador Dr. Marcelo Souza de Andrade no Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade (LEGH) - situado à Rua dos Prazeres nº 215, Centro, na Cobertura da Unidade Materno Infantil – pelo telefone (98) 2109-1258 ou com a coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário, situado à Rua Barão de Itapary nº227, Centro, CEP- 65.020-070 ou pelo telefone (98) 2109-1250.

#### BENEFÍCIOS

- Você será informado dos resultados dos exames se assim desejar.
- Esta pesquisa poderá contribuir para amostragem de estudos de suscetibilidade a esta patologia, o que pode auxiliar no diagnóstico de familiares

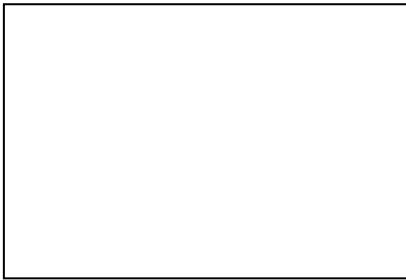
#### VOCÊ DEVE DECIDIR O SEGUINTE:

- Autoriza o armazenamento de dados e materiais coletados para a pesquisa, conforme descrito anteriormente. ( ) Sim ( ) Não
- Quer saber o resultado dos exames. ( ) Sim ( ) Não

Se você concordar em participar da pesquisa, rubrique todas as páginas deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e assine ao seu término ou identifique sua digital. Você

receberá uma via deste documento assinada pelo pesquisador responsável e a outra ficará em posse do pesquisador responsável por este estudo.

SÃO LUÍS,



Espaço para digital

---

PARTICIPANTE DA PESQUISA

---

PESQUISADOR

**APÊNDICE B - Questionário****IDENTIFICAÇÃO DOS INDIVÍDUOS PARTICIPANTES**

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Grupo étnico: Branco  Amarelo  Parda  Preto  Indígena 

Endereço: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Telefone: ( ) \_\_\_\_\_

1- Você é maranhense?

 Sim  Não

De onde? \_\_\_\_\_

2- Seus pais e avós são maranhenses?

 Sim  Não

De onde? \_\_\_\_\_

3- Há algum caso de diabetes em sua família?

 Sim  Não

Se sim, qual a faixa etária?

 Criança Adulto Idoso

Qual o nível de parentesco?

 Pais Tios Avós Sobrinho Outros: \_\_\_\_\_

4- Você já verificou sua taxa de glicose?

 Sim  Não

Teve resultados acima de 126mg/dl?

- Sim  Não

Se teve, repetiu?

- Sim  Não

5- Como realiza o controle do Diabetes?

- Por medicamento  
 Por alimentação equilibrada  
 Outros: \_\_\_\_\_

6- Pratica atividade física regularmente?

- Sim. Mais de 30 minutos por dia ou 4 horas por semana  
 Não. Menos de 30 minutos por dia ou 4h semana.

7- Consome diariamente vegetais, frutas, legumes e grãos?

- Sim  Não

8- Consome diariamente frituras, salgados, carne gorda?

- Sim  Não

9- Você fuma?

- Nunca fumou  Fumava, mas parou.  1 a 10 cigarros por dia  
 Mais de 10 cigarros por dia

10- Consome bebida alcoólica?

- Sim  Não

11- Possui pressão alta?

- Sim  Não

Como realiza o controle?

- Medicamentos  
 Alimentação  
 Outros:



## ANEXOS

## ANEXO A - Declaração de viabilidade do Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade (LEGH)



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
LABORATÓRIO DE ESTUDOS GENÔMICOS E  
DE HISTOCOMPATIBILIDADE



## DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o projeto "Associação de genes HLA em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 2" sob a Coordenação do prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade, poderá utilizar dados secundários produzidos pelo Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade -LEGH/HUUFMA relacionados a tipificação HLA de doadores voluntários de medula óssea que concordarem em participar da referida pesquisa mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os exames de Tipificação de Doadores Voluntários de Medula Óssea são realizados na rotina deste laboratório. O LEGH fornecerá os resultados das tipificações dos DVMOs apenas para os doadores que tiverem anuência de participação na pesquisa confirmada pelo TCLE, para que seja possível a busca de polimorfismos relacionados a diabetes tipo II.

Dr. Fernando José Brito Patrício  
Código CRIB 06 383 4510  
Município SAPE 2246200  
LEGH | HUUFMA

*Fernando José Brito Patrício*

Dr. Fernando José Brito Patrício

Responsável técnico pelo Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade

## ANEXO B - Termo de compromisso e responsabilidade do pesquisador e autorização do HEMOMAR



### TERMO DE COMPROMISSO E RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR

<b>NOME DO PESQUISADOR</b>		Rafaella Sousa Ferraz	
<b>ENDEREÇO</b>		Recanto do Vinhais, Rua Munim, Cond. Vitre	
	<b>CEP</b>	65070017	<b>E-MAIL</b> rafaellaferraz.16@hotmail.com
<b>IDENTIDADE</b>	035003392008-1	<b>PROFISSÃO</b>	Estudante
		<b>TEL</b>	(98) 9988731167 / 982228012
<b>GRADUAÇÃO (Maior Titulação)</b>		Graduanda em Ciências Biológicas	
<b>TÍTULO DA PESQUISA / ESTÁGIO</b>		Associação de Genes HLA em Indivíduos com Diabetes Mellitus Tipo 2	
<b>OBJETIVO GERAL</b>		Verificar a associação de genes HLA em indivíduos com diabetes tipo 2 na população de doadores voluntários de medula óssea do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão – HEMOMAR	
<b>ÁREA DE CONHECIMENTO</b>		Ciências Biológicas	
		<b>CÓDIGO DE ÁREA</b>	2.01
<b>ORIENTADOR(ES)</b>		Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade	
<b>INSTITUIÇÃO A QUE ESTÁ VINCULADO(A)</b>		Universidade Federal do Maranhão – UFMA	
		<b>MATRÍCULA</b>	2014003474
<b>INSTITUIÇÃO PATROCINADORA</b>		-	

DECLARAMOS, para os devidos fins, que cumprimos os princípios éticos que devem orientar a pesquisa científica previstos nas Resoluções 466, de 12/12/2012, e 196, de 10/10/1996, do Ministério da Saúde, notadamente os de não maleficência, justiça, beneficência e autonomia, garantindo que as informações coletadas serão utilizadas unicamente para cumprir os objetivos da pesquisa e asseguradas a confidencialidade e a privacidade dos sujeitos investigados (exceção feita quando por consentimento livre e esclarecido, formulado em correspondente termo de consentimento), garantidas ainda a proteção da sua imagem e sua não estigmatização, bem como a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou comunidades envolvidas, inclusive em termos de prestígio, auto-estima e prejuízos de natureza econômico-financeira. Comprometemo-nos a publicar os resultados, sejam eles favoráveis ou não, e aceitamos a responsabilidade da pesquisa.

São Luís, Ma, 12 / 10 / 2017

Pesquisador Responsável (Orientador)

Aluno (a)

Autoriza-se a realização da pesquisa   
Coordenador do Centro  
de Estudos - HEMOMAR

Metrôpoli 107766  
Resp. Centro de Estudos – HEMOMAR