



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

KÊNIA ALVES PEREIRA LACERDA

**Vitiligo: estresse, qualidade de vida, e polimorfismo
Glu²⁹⁸Asp no gene da óxido nítrico sintase endotelial**

**Goiânia
2016**

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

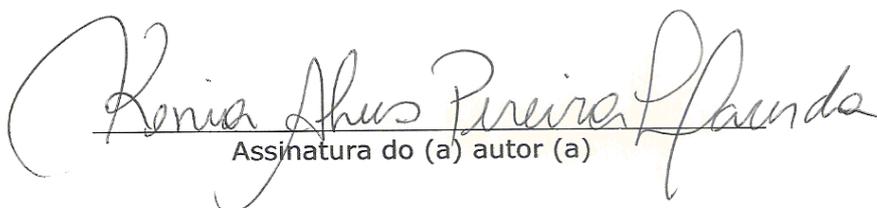
Nome completo do autor: Kênia Alves Pereira Lacerda

Título do trabalho: Vitiligo: estresse, qualidade de vida e polimorfismo Glu298Asp no gene da óxido nítrico sintase endotelial

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 13 / 01 / 2017

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

KÊNIA ALVES PEREIRA LACERDA

**Vitiligo: Estresse, Qualidade de vida, e Polimorfismo
Glu²⁹⁸Asp no gene da óxido nítrico sintase endotelial**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Lídia Andreu Guillo

**Goiânia
2016**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Lacerda, Kenia

Vitiligo: estresse, qualidade de vida e polimorfismo Glu298Asp no gene da óxido nítrico sintase endotelial [manuscrito] / Kenia Lacerda. - 2016.

xvi, 97 f.

Orientador: Prof. Lídia Andreu Guillo Guillo.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de figuras.

1. vitiligo. 2. qualidade de vida. 3. polimorfismo. 4. gene. 5. Glu298Asp. I. Guillo, Lídia Andreu Guillo, orient. II. Título.

CDU 577.1

**Goiânia
2016**

Dedico este trabalho a minha família, por todo amor, apoio, incentivo e esforços realizados para que eu pudesse alcançar essa meta tão importante e desejada e por estar ao meu lado em todos os momentos de minha vida. Também dedico este a todos os portadores de vitiligo, que convivem com o desafio de lutar contra os sintomas de uma doença mal compreendida e administrar as consequências psicológicas de carregar as marcas dessa doença.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível com a colaboração de diversas pessoas e instituições. A todos, manifesto minha gratidão. E de modo particular:

À Universidade Federal de Goiás, por oportunizar grandes conhecimentos;

Agradeço a minha orientadora, Professora Dra. Lídia Andreu Guillo, primeiro por ter me aceito como sua aluna, mas principalmente, pelos ensinamentos;

Aos professores componentes das bancas de qualificação e defesa Wagner Gouvêa dos Santos, Lílian Carla Carneiro, Luiz Almeida da Silva, Hugo Machado Sanchez e Virgínia Visconde Brasil, pelas valorosas contribuições e eterno aprendizado.

A todos os professores, por toda dedicação e direcionamento do caminho;

Minha gratidão aos voluntários da pesquisa pelo carinho, pela confiança e compromisso;

Agradeço à equipe que colaborou na pesquisa: Ana Karina, Jefferson, Morgana e Letícia. Sem essas pessoas fantásticas, dificilmente seria possível desenvolver os trabalhos que foram feitos. Meus queridos, obrigada pelo apoio e pela ajuda que sempre deram.

À FAPEG, pela concessão de bolsa de doutorado sem a qual seria inviável a realização deste trabalho;

Um agradecimento especial a diretora do Hospital Serafim de Carvalho Helena Aparecida Leite, pela abertura ao projeto e permissão para o desenvolvimento de parte do projeto no Hospital. E ao Dr. Marcelo Filizola pelo encaminhamento dos pacientes portadores;

A equipe do laboratório Renovare, na pessoa de Arlete Ferreira dos Reis, pela enriquecedora colaboração que permitiu realização da coleta do material biológico e atividades de laboratório;

Ao estatístico Rafael Guimarães, por sua competência, empenho, paciência e disponibilidade na análise estatística;

Ao meu esposo Sílvio Lacerda, grande amor, cúmplice e amigo, pelo seu companheirismo nos bons momentos e nas adversidades e pelos incentivos na elaboração deste estudo;

Agradeço o apoio de meus amados filhos George, Sabrina e Kevin, que participam com seu amor de cada conquista minha e sonham comigo cada sonho meu;

Ao meu pai Jorge Alves Pereira (*in memorian*), que em vida ensinou muito com seu jeito honesto, humilde e com disciplina e sabedoria indispensáveis na minha formação;

À minha sogra Leila de Oliveira Lacerda (*in memorian*), exemplo de força e superação. Agradeço pelo apoio sempre, por não medir esforços em nos ajudar e pela eterna dedicação;

Aos amigos, pelas palavras estimulantes, pelo acolhimento e pela alegria de suas companhias.

“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis e pessoas incomparáveis.”

Fernando Pessoa

“A travessia real no descobrimento não consiste em buscar novas paisagens, mas sim em ter novos olhos.”

Marcel Proust



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	12
3. MÉTODOS	13
3.1 Tipo, Local e População do Estudo.....	13
3.2 Instrumentos de Avaliação.....	14
3.3 Amostragem e Extração do DNA	17
3.4 Genotipagem da eNOS por PCR/RFLP.....	18
3.5 Análise de Dados	22
3.6 Aspectos Éticos	23
4. ARTIGO 1	26
5. ARTIGO 2	51
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
7. REFERÊNCIAS	72
8. ANEXOS	77
Anexo I. Parecer do Comitê de Ética	77
Anexo II. Termo de Esclarecimento Livre e Esclarecido	80
9. OUTROS ANEXOS	
Anexo V. Questionário: Características gerais da Amostra	92
Anexo VI. Escala: Índice de Qualidade de Vida	94
Anexo VII. Escala: Escala do Estresse Percebido	96

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

Introdução

Figura 1	Tipos e Sub-tipos de vitiligo	2
Figura 2	Localização Citogenética do gene da eNOS.....	6
Figura 3	Sequência Genômica da eNOS.....	7

1° artigo

Tabela 1	Caracterização da amostra, segundo variáveis sociodemográficas (grupo caso e grupo controle) relacionados ao vitiligo (grupo caso), Brasil.....	34
Tabela 2	Distribuição dos escores do DLQI em pacientes com vitiligo, de acordo com as condições sociodemográficas e clínica.....	36
Tabela 3	Regressão linear dos fatores associados à qualidade de vida em pacientes com vitiligo.....	37
Tabela 4	Comparação entre as médias de estresse percebido entre os grupos (caso e controle).....	38
Tabela 5	Regressão linear múltipla dos fatores associados ao estresse percebido.....	39

2° artigo

Figura 1	Gel de agarose 3% para polimorfismo Glu ²⁹⁸ Asp	59
Tabela 1	Distribuição dos genótipos observados e esperados no equilíbrio de <i>Hardy-Weinberg</i> nos grupos caso e controle.....	59
Tabela 2	Distribuição das frequências alélicas e genotípicas em pacientes com vitiligo e grupo controle.....	60
Tabela 3	Associação entre genótipos e variáveis pré-selecionadas em portadores de vitiligo.....	61

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

DNA - *Deoxyribonucleic acid* - Ácido Desoxirribonucleico

eNOS - Enzimas Óxido Nítrico Sintase Endotelial

EP - Erro Padrão

BSA - Albumina Sérica Bovina

β - Coeficiente de Regressão

cNOS - Enzimas Constitutivas

CAD - Doença Arterial Coronária

CaM - Calmodulina

Ca²⁺- Íon Cálcio

CVD - Doenças Cardiovasculares

DP - Desvio Padrão

DLQI - *Dermatology Life Quality Index* - Índice de Qualidade de vida

dNTPS - Dexonucleotídeos trifosfatados

EDTA - Ethylenediamine tetraacetic acid - ácido etilenodiamino tetraacético

ewh - Equilíbrio de Hardy-Weinberg

GWAS - *Genome-Wide Association Study* - Estudo de Associação do Genoma

IC - Intervalo de Confiança

iNOS - Enzima Óxido Nítrico Induzível

IIQ - Intervalo Interquartil

Kb - Kilobases

KD - Massa Molar

LDL - Lipoproteínas de Baixa Densidade

L-Arginina - Aminoácido Semi-Essencial

L-Citrulina - Aminoácido Não-Essencial

Mbol - Enzima de Restrição

Mg²⁺- Íons de Magnésio

NSV - Vitiligo Não Segmentar

NO - Óxido Nítrico

NOS - Enzimas Óxido Nítrico Sintase

OMS - Organização Mundial de Saúde

PSS-10 - Perceived Stress Scale – Escala de Percepção do estresse

PCR/RFLP - Polymerase Chain/Restriction fragment length polymorphism -
Reação em Cadeia da Polimerase/Polimorfismo de Comprimento de
Fragmentos de Restrição

Primers – Iniciadores de sequências curtas de oligonucleotídeos

Pb - Pares de Bases

QV - Quality of life - Qualidade de Vida

RNA_m - RNA Mensageiro

SNP - *Single Nucleotide Polymorphism* – Polimorfismo de Nucleotídeo
Único

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences* - Pacote Estatístico para
as Ciências Sociais

SV - Vitiligo Segmentar

SCF - Stem-cell-factor – Fator Célula Tronco

Taq DNA - Enzima DNA Polimerase

μL - Microlitro

RESUMO

O vitiligo é uma doença da pele que afeta cerca de 1% da população em todo o mundo. Esta doença não causa incapacidade física, mas devido à sua aparência desfigurante, os portadores podem apresentar distúrbios psicológicos e comprometimento na qualidade de vida. A patogênese ainda não foi esclarecida. Recentemente, evidências sugeriram que alguns polimorfismos de genes estão associados com risco de desenvolvimento do vitiligo. Este estudo objetivou investigar polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em um grupo de pacientes com vitiligo e comparar as frequências dos genótipos com um grupo controle da região centro oeste do Brasil, também avaliar a qualidade de vida e a percepção de estresse em indivíduos portadores de vitiligo e comparar a percepção de estresse com os não portadores. Primeiro estudo, incluiu 51 indivíduos com vitiligo e 50 pessoas controles. As amostras de sangue total foram obtidas por coleta de sangue venoso periférico, em seguida, foi realizado a extração do DNA. A genotipagem do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp foi realizada por análise de PCR-RFLP. A investigação sobre a associação do polimorfismo do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp com vitiligo, não apresentou diferença significativa na distribuição dos genótipos e na distribuição das frequências alélicas entre os portadores e grupo controle. Porém, na análise da associação entre os genótipos e as variáveis localização do vitiligo e cor da pele nos portadores, verificou maior proporção de genótipos TT em indivíduos com vitiligo unisegmentar 100% e GT em portadores com vitiligo localizado 68,3% ($p = 0,028$). Ainda, no modelo dominante, verificou-se uma proporção significativamente maior de genótipo GG em indivíduos da cor negra 34,5%, enquanto se verificou maior frequência de indivíduos da cor morena moderada com genótipo GG+TT 54,5% ($p = 0,035$). No segundo estudo, a amostra foi composta por 102 participantes divididos em dois grupos, com vitiligo e sem vitiligo. Utilizou-se os questionários *Dermatology Life Quality Index* e a *Perceived Stress Scale*. O escore médio de qualidade de vida para os portadores de vitiligo foi de $4,7 \pm 5,8$, demonstrando um comprometimento leve nos portadores. Verificou-se associação significativa entre qualidade de vida e cor da pele negra ($\beta = 5,64$; $p < 0,001$), padrão de envolvimento do vitiligo exposto ($\beta = 5,22$; $p < 0,001$) e estresse percebido ($\beta = 0,22$; $p = 0,033$). O estresse percebido avaliado entre os grupos apresentou média de $20,7 \pm 6,0$ e $17,8 \pm 7,0$ para caso e controle, respectivamente. Portadores do vitiligo apresentaram uma percepção elevada de estresse quando comparado ao grupo controle ($\beta = 3,12$; $p = 0,022$). Os resultados, apontaram uma percepção elevada de estresse nos portadores de vitiligo, evidenciando que o fato de possuir vitiligo aumenta o nível de estresse. Sabe-se que vários fatores, tais como o perfil genético e etnia da população analisada, podem influenciar no complexo susceptibilidade à doença, portanto, mais estudos são necessários para elucidar o papel do polimorfismo do gene da eNOS na patogênese do vitiligo.

Palavras-Chave: vitiligo; qualidade de vida; polimorfismo; gene; Glu²⁹⁸Asp

ABSTRACT

Vitiligo is a skin disease that affects about 1% of the population worldwide. This disease does not cause physical incapacity, but due to its disfiguring appearance, the carriers can present psychological disturbances and impairment in the quality of life. The pathogenesis has not yet been clarified. Recently, evidence has suggested that some gene polymorphisms are associated with risk of developing vitiligo. This study aimed to investigate the Glu²⁹⁸Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene (eNOS) in a group of patients with vitiligo and to compare the frequencies of the genotypes with a control group from the center-west region of Brazil, as well as assess the quality of life and the perception of stress in individuals with vitiligo and to compare the perception of stress with non-carriers. First study included 51 individuals with vitiligo and 50 controls. The whole blood samples were obtained by collection of peripheral venous blood, then DNA extraction was performed. The genotyping of the Glu²⁹⁸Asp polymorphism was performed by PCR-RFLP analysis. The research on the association of the polymorphism of the eNOS Glu²⁹⁸Asp gene with vitiligo did not present a significant difference in the distribution of genotypes and in the distribution of allelic frequencies between the carriers and the control group. However, in the analysis of the association between the genotypes and the variables location of vitiligo and skin color in the carriers, a higher proportion of TT genotypes was observed in individuals with unisegmentar vitiligo 100% and GT in patients with localized vitiligo 68.3 % (P = 0.028). Also, in the dominant model, a significantly higher proportion of GG genotype was observed in black individuals 34.5%, while the GG + TT genotype 54.5% had a higher frequency of moderately bruised individuals. (P = 0.035). In the second study, the sample consisted of 102 participants divided into two groups, with vitiligo and without vitiligo. We used the Dermatology Life Quality Index questionnaires and the Perceived Stress Scale. The mean quality of life score for patients with vitiligo was 4.7 ± 5.8, demonstrating a mild impairment in the patients. There was a significant association between quality of life and black skin color ($\beta = 5.64$, $p < 0.001$), pattern of involvement of exposed vitiligo ($\beta = 5.22$, $p < 0.001$) and perceived stress ($\beta = 0.22$, $p = 0.033$). The perceived stress assessed between the groups presented a mean of 20.7 ± 6.0 and 17.8 ± 7.0 for case and control, respectively. Vitiligo patients presented a high perception of stress when compared to the control group ($\beta = 3.12$, $p = 0.022$). The results pointed out a high perception of stress in vitiligo patients, evidencing that the fact of having vitiligo increases the level of stress. It is known that several factors, such as the genetic profile and ethnicity of the analyzed population, can influence the complex susceptibility to the disease, therefore, more studies are needed to elucidate the role of eNOS gene polymorphism in the pathogenesis of vitiligo.

Keywords: vitiligo; quality of life; polymorphism; gene; Glu²⁹⁸Asp

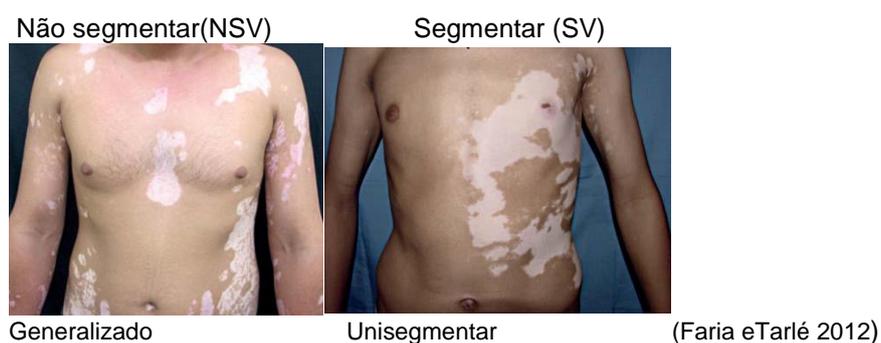
1 Introdução

Vitiligo é uma doença sistêmica, adquirida, crônica que tem um curso clínico imprevisível, caracterizada pelo aparecimento de máculas ou manchas hipocrômicas na pele e membranas mucosas devido ao desaparecimento da funcionalidade dos melanócitos na área afetada. Estas lesões podem aparecer em diferentes formas e tamanhos e pode estar presente em qualquer área do tegumento, (TARLÉ et al 2011).

De acordo com a revisão realizada durante *Vitiligo Global Issue Consensus Conference* entre 2011 e 2012 Ezzedine et al (2012), o vitiligo pode ser classificado como não segmentar e segmentar. A forma não segmentar é a mais comum, sendo dividida em acrofacial, mucosal, generalizada ou comum, universal e mista. O tipo generalizado caracteriza-se por manchas simétricas, podendo afetar qualquer parte do tegumento.

O vitiligo universal caracteriza-se por afetar 80 a 90% da superfície corpórea. E a forma mista caracteriza-se por apresentação concomitante de vitiligo segmentar e não segmentar e a forma segmentar geralmente respeita a linha média corporal e costuma seguir o dermatomo correspondente (Figura 1). Menos comumente, pode afetar um ou dois segmentos e até ocorrer segmento bilateral com início simultâneo ou não. Existem ainda as formas raras como a ponteadada e a folicular que são formas inclassificáveis.

Figura 1. Tipos e Subtipos de vitiligo:



O desenvolvimento do vitiligo pode ocorrer em qualquer idade, sendo a idade média de aparecimento por volta dos 20 anos (Szczurko; Boon, 2008, p.2). Estudos sugerem que não há diferença significativa de prevalência entre os sexos (Steiner et al 2004).

Aproximadamente 0,5% a 1% da população europeia e americana é afetada sem diferença racial ou sexual (Lotti, 2014). Segundo Rosa e Natali (2009), estimam prevalência de aproximadamente 1% de vitiligo no Brasil. Tarlé et al (2015) afirmam que no Brasil ainda não tem dados epidemiológicos atualizados sobre a incidência e prevalência do vitiligo. Dessa forma, não existe consenso acerca de sua prevalência na população brasileira em geral.

- Aspectos Etiológicos da Doença

Quanto à etiopatogenia do vitiligo, várias teorias foram propostas e ainda tem sido para tentar explicar o processo de despigmentação que ocorre no vitiligo. Entre essas, encontram-se as teorias, neural, autoimune, autotóxica de melanócitos e genética.

- Teoria neural: tanto as células melanocíticas quanto o sistema nervoso são derivados da mesma linhagem embriológica (Reed, Parichy, Erickson, 1998, p.78). Essa teoria indica que um possível mediador

neuroquímico, causa a destruição de melanócitos ou inibe a produção de melanina, Barnes (1988);

- Teoria autoimune: autores admitem que o vitiligo seja uma doença autoimune, onde ocorre a formação de anticorpos antimelanocíticos (autoanticorpos) e por consequência a destruição dos melanócitos (Kemp, Waterman, Weetman, 2001). Esses anticorpos circulantes estão ligados diretamente à extensão da despigmentação cutânea (Naughton, Reggiardo, 1986,);

- Teoria autótoxica: sabe-se que os melanócitos têm como função proteger o organismo e assim eliminar produtos tóxicos, tais como dopaquinonas e indoís. Quando esta proteção está deficiente, ocorre a formação destes produtos a partir da síntese de melanina e com isso inicia o processo de destruição das células melanocíticas, (Steiner et al 2004);

- Teoria genética: segundo Nath; Manjumder; Nordlund (1994), existe um componente genético multifatorial para o vitiligo em indivíduos predispostos à doença. Provavelmente essa multifatoriedade é responsável pela complexidade da apresentação clínica da doença nesses pacientes. Majumder, Nordlund (1993) postularam que pelo menos três genes alelos diferentes estão envolvidos na expressão do vitiligo, isto é, trata-se de uma desordem poligênica. Estudos de Chen, Jimbow (1994) demonstraram que a cultura de melanócitos de pacientes com vitiligo ativo tem menor expressão de c-Kit e *stem-cell-factor* (SCF), que são receptores fundamentais no processo de diferenciação do melanócito e posterior melanização.

Mohammed et al (2015), enfatizam que a patogênese do vitiligo permanece indefinida, embora muitas teorias tenham sido para esclarecer a

patogenia, mas fica evidente que o vitiligo é uma doença multifatorial (que envolve muitas interações gênicas diferentes).

Dessa maneira, o vitiligo é considerado uma doença sem etiologia definida, com prognóstico reservado e que acarreta uma série de transtornos emocionais nos pacientes: de 10 a 76% dos portadores de vitiligo conferem à doença, algum fator precipitante (falecimento de parentes, desilusão amorosa e violência moral e física) (ROSA; NATALI, 2009).

- Aspectos Genéticos Moleculares do Vitiligo

A maioria das doenças humanas resulta de uma interação entre as variantes genéticas e fatores ambientais. O estabelecimento da real contribuição de fatores genéticos, é o primeiro passo em estudos genéticos, que avaliam doenças complexas (Antelo, 2008). O possível envolvimento de um polimorfismo genético é importante para elucidar a patologia do vitiligo.

O polimorfismo genético pode ser definido como a ocorrência regular em uma população de dois ou mais alelos, localizado em um ponto específico do cromossomo, que apresenta em uma frequência maior que 1%, podendo gerar em deficiências proteicas, tais como: proteína alterada, alteração no nível normal da proteína expressada ou nenhuma mudança na produção ou expressão proteica, (Wheeler, Wong 2001).

Os polimorfismos são caracterizados por substituição, inserção ou deleção de únicos ou múltiplos nucleotídeos no DNA e podem ocorrer nas mais diversas regiões do genoma humano, como: regiões regulatórias (controle da atividade e expressão gênica), regiões codificantes (codificadoras de proteínas), regiões dos introns ou mesmo regiões inter-genes (Balasubramanian et al, 2004). Os mesmos autores ainda enfatizam

que polimorfismos podem ser classificados como selvagens quando ao comparar várias sequências, elas serem comuns e podem ser classificados como raros, quando comparadas várias sequências da mesma região, apresentarem variância alélica rara.

As formas mais comuns de variantes do genoma humano são constituídas por mutações pontuais designadas SNPs, onde há substituição de um nucleotídeo por outro (Sabatine, Seidman e Seidman, 2006).

Christie (2008) afirma que os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) respondem por aproximadamente 90% da variabilidade humana, acreditando-se que um SNP ocorra em média a cada 100 a 300 pares de bases. Desta forma, há aproximadamente 10 milhões de variações comuns da classe dos SNPs no genoma humano.

É válido ressaltar que existem diferenças acentuadas entre as populações humanas em termos de distribuição dos SNPs, podendo fazer com que alelos raros em uma determinada população sejam extremamente abundantes em outras (KUBISTOVA, 2009).

Recentemente, a compreensão da base genética do vitiligo foi avançada através do estudo de ampla associação global do genoma (GWAS). Mais de 40 loci sensíveis robustos foram identificados e confirmados serem associados com vitiligo usando GWAS, dentre eles os SNPs (rs2476601-A, rs4908760-G, rs 1464510 – T, rs 7758128 –A, rs 3806156 – T, rs3823355-T, rs706779-A, rs1393350-G, rs8182917-G, rs2273844-A, rs11120322203-A, rs229527-T - (Jin et al 2010); rs11966200-A, rs9468925, rs2236313-T, rs6902119-C, rs1159357 - (Quan et al 2010); rs13208776- (Birlea et al 2010); rs3757247-A, rs2111485-G, rs476578-T,

rs5937417-C, rs1872571-C, rs853308-G, rs38142231-G, rs10768122-G, rs4409785, rs2456973-C, rs4766578-T, rs1129038-C, rs9926296-A, rs6510827-T, rs4822024-G– (Jin et al 2012a); rs 9851967, rs11417210-C, rs638893-C, rs10876864 (Tang et al 2013); rs32213758-A (Cheong et al 2013). A maioria destes genes associados participam em vias importantes envolvidas na patogênese de vitiligo (SHEN et al 2016).

Estes loci genéticos podem ajudar a construir a base para o diagnóstico genético e personalizar o tratamento para pacientes com vitiligo no futuro.

Dentre os polimorfismos mais estudados, pode-se destacar o polimorfismo das enzimas óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), apresentada na figura 2, o gene que a codifica, localiza-se no braço longo do cromossomo (7q35-36), contém 26 éxons ao longo de 21 kilobases (Kb) de DNA genômico e codifica um RNA mensageiro de 4052 nucleotídeos (ABRAMSON, 2001).

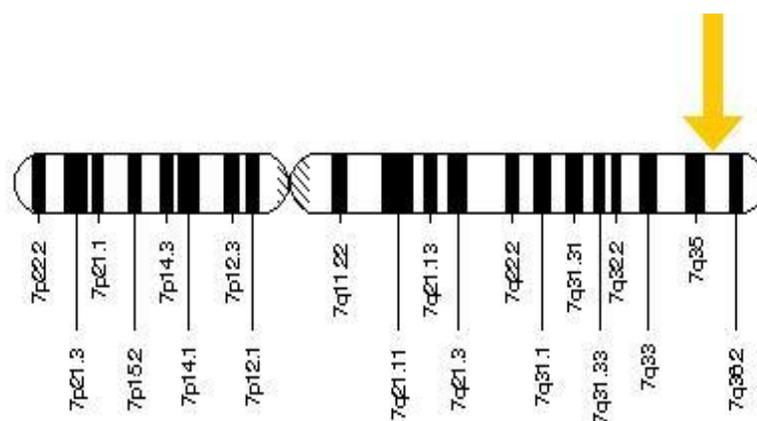


Figura 2. Localização citogenética do gene da eNOS (Patrias e Wendling, 2007)

Pelo menos 12 polimorfismos têm sido discutidos para o gene da eNOs. Estes estão presentes na região promotora [SNPs nas posições -786,

-924 e -1474], na região codificadora do DNA [C774T, Glu²⁹⁸ Asp (rs179983)] e nos íntrons 2, 11, 22 e 23, (Marroni et al 2005).

Um SNP denominado Glu²⁹⁸Asp, localizado no éxon 7, é caracterizado pela presença de uma Timina no lugar de uma Guanina no nucleotídeo 894 (figura 3). A presença da timina acarreta mudanças do aminoácido glutamato por aspartato na posição 298 (Glu²⁹⁸Asp) da proteína eNOS, (De Marco,2010).

Figura 3. Posição genômica da região polimórfica da eNOS

```
5'catgaggctcagccccagaacccccctctggcccactccccacagctctgcattcagcacggctggacc  
ccaggaaacggtcgtctcgacgtgctgcccctgctgctgcaggccccagatgagccccagaactctcc  
ttctgcccccgagctggtccttgaggtgcccctggagcaccacgtgagcaccaaagggattgactttga  
ct 3'
```

Sequência genômica da eNOS, e localização do polimorfismo do presente estudo. Fonte: NCBI- National Center of Biotechnology Information; single nucleotide polymorphism.

Alguns SNPs afetam a sequência de aminoácidos de uma determinada proteína por estarem localizados dentro de regiões gênicas que serão codificadas e expressas (éxons). Esse tipo de SNP, denominado estrutural é geralmente, responsável por mudanças na estrutura protéica com perda ou redução da função original ou da capacidade de ligação da mesma, (Nussbaum et al 2002).

As enzimas NOS apresentam-se sob duas isoformas: a constitutiva e a induzível. As isoformas constitutivas são subdivididas em nNOS (NOS neural) e eNOS (NOS endotelial) encontradas nos neurônios e endotélio respectivamente. Já a isoforma induzível pode ser encontrada em macrófago, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, sendo essas isoformas codificadas por diferentes genes localizados em diferentes cromossomos (Moncada, Palmer, Higgs,1991).

As eNOS são isoformas constitutivas cálcio-dependentes, necessitando do aumento dos níveis de cálcio intracelular e consequente

ligação desse com a calmodulina (CaM) para a ativação dessas enzimas Silva et al (2011). Elas são estimuladas por uma cascata bioquímica que envolve a participação dos íons Ca^{2+} e a calmodulina. O complexo Ca^{2+} e calmodulina realiza a ativação do domínio redutase da enzima, com a transferência dos seus elétrons para o domínio oxigenase, ativando a eNOS, que será usada no metabolismo da L-arginina, Craig et al (2002). A eNOS localiza-se nas invaginações da membrana plasmática de células endoteliais, denominadas cavéolas Dudzinski et al (2006). É responsável pela conversão de L-arginina, um aminoácido semi-essencial, em óxido nítrico (L-citrulina) (Markus et al 1998).

O óxido nítrico (NO) é uma das mais versáteis moléculas conhecidas, sendo considerado um importante regulador do sistema cardiovascular e endócrino-metabólicas, atuando como mediador em muitas reações biológicas (Melino et al 1997). O NO é o principal mediador citotóxico de células imunes efectoras ativadas e constitui a mais importante molécula reguladora do sistema imune (Dusse, Vieira, Carvalho, 2003). Tem ainda propriedades antiinflamatórias, já que suprime a ativação de quimocinas e citocinas pró-inflamatórias e de moléculas de adesão em monócitos (Ganz, 2003,). Siasos et al (2006), afirmam que possui propriedades antioxidantes, que resultam na inibição da oxidação das LDL e ações anti-apoptóticas sobre as células endoteliais e regula os níveis de homocisteína, cuja elevação é um importante fator de risco para a doença cardiovascular (Brown et al, 2003).

Determinados fatores genéticos e ambientais, inclusive, têm sido estabelecidos, entretanto nenhum dos dois emerge como necessário ou

suficiente para o desenvolvimento da doença. A busca por marcadores genéticos que possam elucidar a etiopatologia do vitiligo, bem como sua evolução clínica, pode fornecer interessantes achados na explicação do intrincado mecanismo desta patologia.

- Aspectos Psicossociais do vitiligo

O vitiligo é uma doença de pele crônica de sabido impacto emocional para os portadores. Esta apresenta estados clínicos e evolutivos diversos que interferem no comportamento dos portadores, é assintomática, mas acompanhada de mitos, de tratamentos prolongados, sendo usualmente relacionada a um sofrimento psíquico desproporcional aos sintomas clínicos do portador, (Manzoni, 2011).

Abdulrahman; Xing-Hua (2016) afirmam que existe uma variedade de estigmatização, definida como um processo em que a aparência da pele dos portadores do vitiligo é negativamente julgada e há também, vários graus de distúrbios emocionais, incluindo o mau humor, baixa autoestima e alto nível de estresse nos portadores. Estudos que mensuram a qualidade de vida (QV), relacionada com a saúde tais como o índice de qualidade de vida dermatologia (DLQI), têm demonstrado que o vitiligo afeta qualidade de vida Ongenae et al (2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu “QV como a percepção dos indivíduos de sua posição em vida, no contexto dos sistemas de cultura e de valores que ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações”The Whoqol Group in Fleck et al (2000, p. 179). Mitrevska; Eleftheriadou; Guarneri (2012) apontam que a mensuração da QV é importante para a avaliação de aspectos clínicos não

somente da doença, mas das descobertas das limitações funcionais e psicológicas e escolha do tratamento para a doença. O vitiligo pode afetar a QV do paciente em quatro aspectos diferentes, físico, psicológico, social e ocupacional, segundo (Rajagopalan et al 1999).

Diante disto, existe a necessidade de se identificar marcadores genéticos associados a susceptibilidade do vitiligo, com objetivo de prevenir ou minimizar essa doença. Conforme discutido, os polimorfismos dos genes do óxido nítrico sintase endoteliais são potenciais candidatos. A presença de polimorfismo no gene da eNOS tem sido associada a diversas doenças cardiovasculares como doença arterial coronariana, hipertensão arterial sistêmica e aterosclerose.

Os bancos de dados *Medline*, *Lilacs* e *Pubmed* foram acessados com as palavras chaves *Polymorphism and vitiligo; enzyme oxide nitric endotelial and vitiligo; polymorphism and Glu²⁹⁸Asp; eNOS and vitiligo e polymorphism and eNOS*. Na referida busca, nenhum estudo foi encontrado que avaliasse a interação entre a presença do polimorfismo no gene da eNOS na posição Glu²⁹⁸Asp e vitiligo.

Considerando que alguns genes podem ser utilizados como marcadores genéticos associados a determinadas doenças e que os marcadores variam conforme a constituição genética de cada população, é importante a obtenção de dados específicos para população em estudo. Dessa forma, por suas associações com doenças inflamatórias crônicas como lúpus eritematoso sistêmico, (Petri, 2002) e em outras doenças autoimunes, como artrite reumatoide, (Worthington et al 2005), esclerose sistêmica, (Kim et al 2003) o gene da eNOS, com seu polimorfismo

Glu²⁹⁸Asp é um gene que possivelmente pode conferir susceptibilidade ao vitiligo e às suas manifestações clínicas.

Assim, a presente pesquisa teve como objetivo investigar a qualidade de vida, o estresse percebido, e o polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em um grupo de pessoas com vitiligo.

A seguir são apresentados dois estudos em formato de artigo científico, o primeiro teve como objetivo avaliar a qualidade de vida através do instrumento DLQI em voluntários portadores do vitiligo, investigar a dimensionalidade da escala de estresse percebido em sua versão de 10 itens (PSS-10) em voluntários portadores de vitiligo, voluntários controles e avaliar a influência do sexo, idade, nível de escolaridade e a qualidade de vida dos pacientes com vitiligo. Este artigo foi submetido a revista Ciência e Saúde Coletiva.

O segundo estudo trata-se da avaliação da frequência do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) por meio do método PCR-RFLP, em voluntários com vitiligo, voluntários controles em Jataí – Goiás e determinar as frequências alélicas de cada polimorfismo em ambas as populações.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a qualidade de vida, a percepção do estresse e polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em um grupo de portadores com vitiligo.
- **2.2 Objetivos Específicos**
- Determinar a frequência genotípicas e alélicas do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), em portadores com vitiligo e não portadores.
- Avaliar a qualidade de vida de portadores com vitiligo e verificar o estresse percebido em portadores e não portadores.
- Identificar associação entre qualidade de vida e estresse percebido com as variáveis: idade, estado civil, escolaridade, cor da pele, tempo com vitiligo, tratamento para vitiligo, localização das lesões e padrão de envolvimento.

3 MÉTODOS

3.1 Tipo, Local e População do Estudo

Foi realizado estudo descritivo de corte transversal no Serviço de Dermatologia do Hospital Público de Jataí no Sudoeste Goiano, a partir dos registros de pessoas que foram diagnosticados com vitiligo no período de 2012 a 2013.

Jataí é uma cidade que possui aproximadamente 98.000 habitantes e ocupa uma área de 7.174.220 Km²(IBGE, 2016). O município contém 10 postos de saúde, 1 centro de assistência psicossocial, 1 centro de reabilitação de movimentos e 1 hospital, todos públicos. A pesquisa foi realizada com os portadores que tratam a doença no ambulatório do hospital, devido este ser o serviço público de maior demanda na cidade, atendendo diariamente aproximadamente 300 pacientes no serviço de urgência e 25 consultas agendadas no ambulatório.

O estudo foi realizado no período de janeiro de 2014 a janeiro de 2015, tendo sido revisados 730 prontuários e nestes foram encontrados 90 pacientes diagnosticados com vitiligo. Nos prontuários havia número do telefone de cada paciente, logo foi realizado o contato via telefone e feito um agendamento da visita para a explanação e objetivos do projeto.

No referido Hospital funciona um hemocentro desde o ano 1992, em média são atendidos 20 doadores por dia. No hemocentro foi realizada uma triagem dos doadores que poderiam participar como voluntários controles na pesquisa, conseguindo 51 voluntários. Estes foram pareados com grupo caso (possuíam vitiligo) na idade e gênero.

Os agendamentos das visitas dos voluntários casos que haviam desistido do tratamento e dos controles foram marcados nas residências destes, já os voluntários casos em tratamento, foi realizado no hospital após a consulta. Foi utilizado como critério de exclusão, idade menor que 18 anos para participar do projeto.

No primeiro encontro, foram explanados os objetivos do projeto e 51 participantes interessaram em participar como voluntários casos, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido, os 39 portadores restantes por recusa não quiseram participar.

Num segundo encontro, foram aplicados os questionários a todos os voluntários do projeto, o primeiro sobre a caracterização das amostras quanto aos dados sociodemográficos a doença (anexo V). E mais dois questionários (anexos VI e VII) com escala tipo Likert, para mensurar a qualidade de vida e a percepção do estresse dos voluntários.

3.2 Instrumentos de Avaliação

Para caracterização da amostra quanto aos dados sociodemográficos e à doença, utilizou-se um questionário, que continha informações como idade, sexo, estado civil, nível de escolaridade, tempo com vitiligo e tratamento utilizado (anexo V). O questionário foi aplicado para os dois grupos casos e controles.

O *Dermatology Life Quality Index* (DLQI) é um instrumento que foi aplicado e validado para outros 12 idiomas, entre os quais pode-se mencionar o acesso às publicações da Índia Parsad et al (2003), Noruega - Mørk, Wahl, Tornbjørn, (2002. p. 349), Indiana – USA - Hahn et al (2001), Dinamarca - Zachariae et al (2000), Nova Iorque - USA - Reilly et al (2003, p.129), Suécia - Lundberg et al (2000, p.433), África do

Sul – Jobanputra, Bachmann (2000, p. 830), Itália - Mazzoti et al (2003, p. 323), e Espanha - adaptação cultural: Tiedra et al (1998, p.698); validação; Badía, Mascaró, Lozano, (1999, p.700), além da versão original do Reino Unido - Finlay, Kahn, (1994, p.215). O estudo da qualidade de vida (QV) reflete apenas uma faceta do quão abrangente é o estudo das doenças, e neste caso, as de pele Zogbi et al (2004).

Para contemplar tal enfoque, o DLQI foi adaptado e validado no Brasil por Martins, Arruda e Mugnaine (2004). Tal estudo baseou-se na necessidade de se obterem informações mais detalhadas sobre a qualidade de vida dos brasileiros e mensurar o impacto das doenças de pele na vida dos pacientes afetados. Este instrumento se propõe seguindo a escala Likert, contemplando seis domínios: sintomas e sentimentos em relação à doença (questões 1 e 2), atividades diárias (questões 3 e 4), lazer (questões 5 e 6), trabalho e escola (questão 7), relações interpessoais (questões 8 e 9) e tratamento (questão 10), (anexo VI). Esta escala foi aplicada somente ao grupo casos, é composta por 10 questões, com quatro alternativas de respostas: nada, um pouco, bastante e realmente muito, que correspondem aos escores de 0 a 3, respectivamente. O paciente deve responder às questões pensando nos impedimentos causados na última semana (ZOGBI et al 2004).

O escore total é calculado pela soma dos escores de todas as questões, podendo chegar ao máximo de 30 e mínimo de zero nesta pontuação. Quanto maior o escore, mais comprometida está a qualidade de vida do indivíduo.

O escore total do DLQI é computado a partir da soma dos índices avaliados e interpretado de acordo com Hongbo et al, (2005), sem comprometimento da qualidade de vida quando os escores estiverem entre (0-1), comprometimento leve (2-5),

comprometimento moderado (6-10), grave comprometimento (11-20) e comprometimento muito grave (21-30).

Também foi aplicada a escala sobre a Percepção do Estresse (PSS-10) desenvolvida por Cohen; Kamarck; Mermelstein (1983). O PSS é um autorrelato destinado a lidar com grau em que situações na vida de um indivíduo são avaliadas como estressantes. Ele foi originalmente desenvolvido como uma escala de 14 itens que avaliou a percepção de experiências estressantes em relação ao mês anterior no uso de uma escala tipo Likert de cinco pontos.

Posteriormente, autores relataram que a versão 10 itens (PSS-10) mostrou mais consistente as características psicométricas em comparação com a escala de 14 itens por Cohen, Williamson (1988). O uso do PSS-10 é utilizado em muitos países, tendo sido traduzido em várias línguas incluindo japonesa - Mimura, Griffiths (2004), Sueca - Eskin, Parr (1996), chinês – Lee, Crockett, (1994), francês – Muller, Spitz (2003) e espanhol – Carrobes, Remor (2001). Dessa maneira, é o instrumento mais utilizado para avaliar a percepção do estresse, tendo sido validada em mais de 20 países, Remor (2006).

Para melhor conhecimento desta escala, o PSS-10 foi traduzida, validada por Reis, Hino e Rodrigues-Añez (2010), e utilizada em estudos brasileiros com adultos. Segundo Thoits (2010) independente da fonte estressora, diferentes estudos vêm demonstrando que o estresse impacta negativamente na saúde física e psicológica das pessoas. Tais estudos fornecem evidência de que a avaliação do estresse por meio de ferramentas validas e confiáveis é imprescindível para programas de prevenção, diagnóstico e intervenção em relação a esse problema.

Neste estudo foi utilizada a escala com intuito de mensurar o estresse percebido pelos voluntários casos e controles. A escala contém dez questões (anexoVII), foi contruída seguindo a escala tipo Likert de cinco opções de resposta que variam de 0 a 4 (0 - nunca; 1- quase nunca; 2 - às vezes; 3 - quase sempre; 4 - sempre). As questões nesta escala perguntam a respeito dos seus sentimentos e pensamentos durante os últimos 30 dias do último mês.

Dos 10 itens, seis são negativos (1,2,3,6,9,10) e os quatro restantes (4,5,7,8) positivos. Os elementos negativos destinam a avaliar a falta de controle e as reações negativas, enquanto os positivos medem o grau de habilidade de lidar com os estressores existentes. Para obtenção do escore final, os itens positivos têm sua pontuação somada invertida e as demais questões negativas devem ser somadas diretamente. A pontuação final pode variar do escore mínimo de zero até o máximo de 40 pontos, quanto maior forem os escores, maior é o estresse percebido pelo indivíduo.

3.3 Amostragem e Extração do DNA

Foram coletados 10mL de sangue venoso periférico de todos voluntários da pesquisa, em tubo contendo o anticoagulante EDTA. O sangue foi coletado, logo, as amostras foram refrigeradas de 2 a 8° C até o transporte das mesmas. Em seguida, estas amostras foram acondicionadas em gelo seco numa caixa térmica e transportadas ao laboratório de genética do Câmpus/Jataí na UFG. Logo, realizou-se a extração do DNA, utilizando o protocolo estabelecido pelo Kit Purelink™ (Invitrogen, USA), cujos princípios básicos são semelhantes aos demais métodos de extração, que compreende a lise das membranas plasmáticas e nuclear, a degradação e remoção das proteínas e outros componentes celulares e a purificação do DNA genômico obtido.

Todas as amostras de DNA obtidas foram quantificadas e avaliadas quanto ao seu grau de pureza em espectrofotômetro (NanoDrop-ND 2000 Technologies, Inc,ilmington, DE, USA). Após calibração do aparelho, 1 µL da amostra foi utilizado para análise. A concentração do DNA foi determinada a partir da absorbância 260nm e a pureza através da razão da absorbância 260nm/280nm, considerada pura quando a mesma era em torno de 1.8.

Todas as amostras de DNA genômico obtidas só seguiram para genotipagem dos SNPs, por terem sua razão de integridade e pureza em torno e 1.8. Em seguida, o material foi armazenado a -20°C até a realização das análises de reação de cadeia da polimerase (PCR).

Para obtenção do plasma e do soro, outros dois tubos, um contendo anticoagulante EDTA e outro sem anticoagulante, foram coletados e centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm. O plasma e o soro obtidos foram acondicionados em microtubos 1,5 mL e congelados a -20°C. Em seguida, foram utilizados os DNAs extraídos para amplificação em reações em cadeia da enzima polimerase – PCR.

3.4 Genotipagem da eNOS por PCR-RFLP

A reação em cadeia da polimerase, desenvolvida por Mullis, Faloona (1987), permite a amplificação exponencial de um fragmento de DNA, possibilitando a obtenção de mais de 10 milhões de cópias a partir de alguns nanogramas de ácido desoxirribonucleico. É uma técnica rápida, que se completa em 2 a 3 horas, é dotada de grande sensibilidade e especificidade.

A PCR inicia-se com a desnaturação das duplas cadeias de DNA, a uma temperatura de cerca de 95 a 98°C. Após a desnaturação, a temperatura é rapidamente

reduzida, permitindo o emparelhamento dos *primers* a cadeia molde. Os *primers* são sequências curtas de DNA (cerca de 15-30 oligonucleotídeos) que flanqueiam a região a amplificar.

A seguir, a ligação dos *primers*, a temperatura é ligeiramente elevada, permitindo a incorporação específica de desoxinucleotídeos trifosfatados (dNTPs), segundo a regra da complementaridade. Estes dNTPs vão constituindo a nova cadeia de DNA, na fase de extensão. A extensão é catalisada pela Taq DNA polimerase, uma enzima termoresistente que possui um pH ótimo de atuação, que é criado pela adição de um tampão específico.

A ação da Taq DNA polimerase é otimizada por íons de Mg^{2+} e, em certos casos, pode ser necessário recorrer a detergentes para obter este efeito. A reação em cadeia da polimerase dá-se ao longo de vários ciclos, de desnaturação das cadeias de DNA, emparelhamento dos *primers* nas cadeias desnaturadas, e extensão das novas cadeias de DNA. Cada um destes passos ocorre a temperaturas específicas e durante um intervalo de tempo determinado de acordo com a sequência nucleotídica do fragmento a amplificar.

Os DNAs extraídos foram acondicionados com gelo seco numa caixa térmica e transportados para o laboratório do Instituto de Ciências Biológicas do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular no Laboratório de Bioquímica Celular, da Universidade Federal de Goiás, para realizar as análises da genotipagem.

A amplificação por PCR foi realizada empregando-se uma mistura (à exceção dos pares de *primers*) adquirida comercialmente de MasterMix para PCR convencional, adicionando os oligonucleotídeos (Quatro G P&D Ltda, Porto Alegre RS). Os oligonucleotídeos utilizados para o polimorfismo de Glu²⁹⁸Asp foram: 5'-

CATGAGGCTCAGCCCCAGAAC-3' (sense) e 5'- AGTCAATCCCTTTGGTGCTCAC-3' (antisense), segundo Hingorani et al (1999, p. 1519), sintetizados pela Invitrogen Brasil. A reação de PCR foi realizada em um volume final de 50 µL, contendo a seguinte composição: 10 µL de DNA genômico, 45 µL Mastermix, 2,0 µL de oligonucleotídeos e água destilada ultrapura (Gibco, Invitrogen, USA) para completar o volume de 50µL. As reações foram realizadas em termociclador (Techne Inc), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C durante 5 minutos, seguido por 30 ciclos de desnaturação, anelamento e extensão (95°C por 1 min, 60°C por 1 min, e 70°C por 1 min). A extensão final da reação ocorreu a 70°C por 5 min. Os amplificados foram mantidos a -20°C até a digestão enzimática.

Os fragmentos de DNA amplificados foram digeridos por MBOL I (endonucleases). Estas são enzimas que reconhecem determinadas sequências de bases nucleicas, normalmente constituídas por 4 a 8 pares de bases. As endonucleases hidrolisam o DNA num local específico desta pequena sucessão de bases, formando fragmentos de restrição.

Foi escolhida uma enzima que cliva uma sequência que existe numa das formas do polimorfismo, mas não na outra. Assim, a sequência de um dos alelos é clivada e a do outro não. Se o fragmento de DNA possuía a sequência reconhecida pela endonuclease, é dividido em dois ou mais fragmentos, de menor tamanho que o inicial (SAMBROOK, FRITSC, 1989). Para distinguir estes produtos de digestão, procedeu-se a sua separação por eletroforese por gel de agarose.

Para a visualização da amplificação do DNA e fragmentos digeridos, os produtos dessas reações foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 3,0%.

Os produtos de PCR de 206 pares de bases (bp) foram clivados com a enzima de restrição Mbol (PROMEGA, USA). Para a digestão utilizou-se 10 µL do DNA amplificado, 15,8 µL de água destilada ultrapura (Gibco, Invitrogen, USA) 2,0 µl de solução tampão, 0,3 µL de albumina de soro bovino (BSA) acetilado e 1,0 µL de enzima 1x (10 U/µL). A incubação foi feita a 37°C durante 6 horas em um shaker (Vortemp 56, Labnet).

O produto de reação de digestão da enzima MBOL I para o alelo selvagem resultou num fragmento de 206 (pb). Enquanto para o alelo polimórfico foram dois fragmentos de 119 e 87 pb. O controle positivo utilizado foi DNA de amostra de sangue (de outros estudos) já apresentando o polimorfismo em homozigose TT (já comprovado).

3.5 Análise de Dados

- **Estudo da associação sobre qualidade de vida e percepção do estresse**

Instrumentos

Os dados coletados dos questionários utilizados foram registrados em planilha eletrônica de forma codificada. Em seguida estes dados foram analisados com aplicação do programa IBM *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 21.0.

As variáveis categóricas são apresentadas em seu formato de frequência, com números absolutos e proporções. A comparação da distribuição entre elas foi feita com aplicação do teste de qui-quadrado ou Teste U de Mann Whitney de amostras independentes.

As variáveis quantitativas contínuas são apresentadas com suas médias, medianas (quando distribuição não paramétrica), desvio padrão e intervalo de confiança. A análise da forma como os dados se distribuíam foi feita com aplicação do teste de Shapiro-Wilk. A comparação entre médias dos dois grupos, com distribuição normal, foi feita com o Teste T-*Student* para amostras não relacionadas.

E a comparação entre médias e variáveis contínuas foi realizada com teste de Kruskal – Wallis para variáveis politômicas e U de Mann Whitney quando dicotômicas. Também foi feita análise de correlação entre a variável idade e os escores das escalas aplicadas com aplicação do Coeficiente de Spearman. Para a análise de confiabilidade interna das escalas utilizadas (PSS e DLQI) foi aplicado alfa de Cronbach e uma consistência interna aceitável acima de 0,7.

Para a comparação da frequência de Estresse Percebido (≥ 20) com as variáveis independentes e intra-grupos foi utilizado o qui-quadrado quando a variável era dicotômica e o Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes quando havia mais de duas categorias. Foi realizada análise de correlação de Pearson entre as variáveis contínuas.

➤ **Estudo da associação do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e vitiligo**

Instrumentos

Os dados dos instrumentos utilizados foram coletados e registrados em planilha eletrônica de forma codificada. Em seguida estes dados foram analisados com aplicação do programa IBM SPSS Statistics versão 21.0. Inicialmente, as distribuições

dos genótipos foram apresentadas em frequências absolutas e relativas, o teste de qui-quadrado foi utilizado para: a) comparar as diferenças das distribuições dos genótipos observados e esperadas no equilíbrio de *Hardy-Weinberg* em cada grupo (avaliação intragrupo) e b) comparar as diferenças das distribuições genóticas entre os grupos caso e controle (avaliação intergrupos).

Em seguida, a análise univariada por meio de regressão logística foi realizada para comparar as diferenças nas distribuições genóticas e alélicas entre os grupos caso e controle, obtendo-se odds ratio bruto e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%); valores de p foram derivados da estatística de Wald (Dafni et al., 2010). Em todos os testes valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.6 Aspectos éticos

A aprovação do estudo foi concedida pelo termo e aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás sob o número (38488314.0.0000.5083), anexo (1). Os voluntários que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, em anexo (2), de acordo com a Resolução 466/2012.

4 PUBLICAÇÕES

Artigo 1 – Associação entre estresse percebido e qualidade de vida em portadores de vitiligo

Autores: Kênia Alves Pereira Lacerda, Lídia Andreu Guilo, Luiz Almeida da Silva, Rafael Alves Guimarães

Revista (Submetido à Revista Ciência e Saúde Coletiva)

Artigo 2 – Associação do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e vitiligo

Autores: Kênia Alves Pereira Lacerda, Lídia Andreu Guilo, Letícia Cristine Faria

Revista (Ainda não submetido)

Associação entre qualidade de vida e estresse percebido em portadores de vitiligo

Lacerda¹, KAP; Guilo², LA.

Resumo

Vitiligo é uma doença de pele que não causa incapacidade física, mas devido à sua aparência desfigurante, os portadores apresentam distúrbios psicológicos e comprometimento na qualidade de vida (QV). Objetivou-se avaliar a qualidade de vida e a percepção de estresse em indivíduos portadores de vitiligo. O estudo foi descritivo de corte transversal. A amostra foi composta 102 participantes divididos em dois grupos, com vitiligo e sem vitiligo. Utilizou-se os questionários *Dermatology Life Quality Index* e a Escala de Estresse Percebido. O escore médio de qualidade de vida para os portadores de vitiligo foi de $4,7 \pm 5,8$, demonstrando comprometimento leve nos portadores. Verificou-se associação significativa entre qualidade de vida e cor da pele negra ($\beta = 5,64$; $p < 0,001$), padrão de envolvimento do vitiligo exposto ($\beta = 5,22$; $p < 0,001$) e estresse percebido ($\beta = 0,22$; $p = 0,033$). O estresse percebido avaliado entre os grupos apresentou média de $20,7 \pm 6,0$ e $17,8 \pm 7,0$ para caso e controle, respectivamente. Portadores do vitiligo apresentaram percepção elevada de estresse quando comparado ao grupo controle ($\beta = 3,12$; $p = 0,022$). A pontuação geral da qualidade de vida foi relativamente baixa, indicando comprometimento da doença sobre a qualidade de vida. Os resultados, apontaram percepção elevada de estresse nos portadores de vitiligo, evidenciando que o fato de possuir vitiligo aumenta o nível de estresse.

Palavras-chave: vitiligo; pele, estresse; qualidade de vida;

Abstract

Vitiligo is a skin disease that does not cause physical disability, but because of its disfiguring appearance, the carriers present psychological disturbances and impairment in quality of life (QoL). The objective of this study was to evaluate the quality of life and the perception of stress in individuals with vitiligo. The study was descriptive cross-sectional. The sample consisted of 102 participants divided into two groups, with vitiligo and without vitiligo. We used the *Dermatology Life Quality Index* questionnaires and the *Perceived Stress Scale*. The mean quality of life score for patients with vitiligo was 4.7 ± 5.8 , demonstrating mild impairment in patients. There was a significant association between quality of life and black skin color ($\beta = 5.64$, $p < 0.001$), pattern of involvement of exposed vitiligo ($\beta = 5.22$, $p < 0.001$) and perceived stress ($\beta = 0.22$, $p = 0.033$). The perceived stress assessed between the groups presented a mean of 20.7 ± 6.0 and 17.8 ± 7.0 for case and control, respectively. Patients with vitiligo had a high perception of stress when compared to the control group ($\beta = 3.12$, $p = 0.022$). The overall quality of life score was relatively low, indicating disease impairment on quality of life. The

results pointed out a high perception of stress in vitiligo patients, evidencing that the fact of having vitiligo increases the level of stress.

Keywords: vitiligo; Skin, stress; quality of life;

Introdução

Vitiligo é uma hipomelanose adquirida da pigmentação da pele que afeta de 0,005-8,8% da população mundial, sendo caracterizada pelo desenvolvimento de manchas brancas sobre a pele, frequentemente com uma distribuição simétrica típica e extensão progressiva¹. O desenvolvimento da doença pode ocorrer em qualquer idade, porém, nos Estados Unidos e na Índia, a idade média do aparecimento da dermatose é 22 anos e na Inglaterra 25 anos, no Brasil 24 anos, metade dos pacientes desenvolvem a doença antes dos 20 anos de idade².

Algumas investigações sugerem que não há diferença significativa de prevalência entre os sexos, e que adultos e crianças de ambos os sexos são igualmente afetados. Porém, alguns estudos indicam leve superioridade de casos nas mulheres, possivelmente devido a maiores implicações psicológicas e sociais causadas pela doença.^{3,4} De acordo com a avaliação realizada pela *Vitiligo Global Issues Consensus Conference*, no ano de 2012, o vitiligo foi classificado em vitiligo não segmentar (NSV) e vitiligo segmentar (SV) de acordo com sua extensão e forma de distribuição na pele.^{5,6}

Apesar do vitiligo não causar incapacidade física, ele pode levar a grande impacto psicológico, podendo prejudicar de forma significativa a qualidade de vida do indivíduo⁷. O impacto dos sintomas clínicos do vitiligo na qualidade de vida dos pacientes é frequentemente subestimado e há poucos relatos na literatura mundial sobre esse tema.

Condições de pele e qualidade de vida, e algumas doenças mais comumente estudadas, como dermatite atópica, psoríase, ulcerações, vitiligo e acne, mostram que essas doenças causam prejuízo tanto na qualidade de vida dos pacientes, quanto para os serviços de saúde que não estejam monitorando a eficiência dos tratamentos. Frente a esta realidade, a qualidade de vida em dermatologia é uma medida de clínica, de pesquisa e também, de políticas financeiras⁸.

Nas últimas décadas, o número de instrumentos para avaliação da qualidade de vida tem aumentado podendo ser divididos em genéricos ou específicos. O *Dermatology Life Quality Index (DLQI)* é um instrumento específico para doenças dermatológicas e neste estudo foi utilizado para mensurar a qualidade de vida dos pacientes que possuem vitiligo.

É constituído por 10 itens, que estimam a influência da doença quanto aos sintomas, atividades diárias, lazer, trabalho, escola, relações pessoais e o tratamento. Foi traduzido e validado para a versão brasileira (DLQI-BRA) e já foi aplicado em portadores com dermatoses.⁹

Independente da fonte estressora, o estresse impacta negativamente na saúde física e psicológica as pessoas. Tais estudos fornecem evidência de que a avaliação do estresse por meio de ferramentas válidas e confiáveis é imprescindível para programas de prevenção, diagnóstico e intervenção em relação a esse problema.¹⁰ É afirmado que o estresse emocional pode exacerbar alguns eventos na pele.¹¹

Considerando a necessidade de mensuração do estresse percebido e da falta de instrumentos na língua portuguesa que poderiam suprir esta necessidade, validou-se a *Perceived Stress Scale* em adultos (PSS – Escala de Estresse Percebido) PSS-10 (1983) para a versão brasileira¹². Os itens foram designados para verificar o quanto

imprevisível, incontrolável e o quanto sobrecarrega os respondentes avaliam suas vidas.¹³ A consideração de fatores psicológicos é importante para avaliação, tratamento e alguns aspectos da prevenção de problemas dermatológicos¹⁴.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre qualidade de vida e percepção de estresse em portadores de vitiligo e associar com dados sócio-demográfico e comparar a percepção de estresse com os não portadores.

Delineamento Experimental

Inicialmente, realizou um estudo descritivo de corte transversal para avaliação da qualidade de vida em portadores de vitiligo.

Participantes

A priori, foi realizado levantamento nos prontuários médicos de uma instituição de saúde de médio porte, por amostragem não probabilística, situada na região sudoeste do estado de Goiás, com intuito de realizar o levantamento dos portadores de vitiligo que estivessem em tratamento ambulatorial. Foram identificados 730 prontuários no período dos meses de janeiro de 2014 a janeiro de 2015.

Ao final, obteve-se 90 casos de portadores de vitiligo. Todos os portadores foram convidados via telefone a participarem do estudo, utilizando como critério de exclusão, ter idade menor de 18 anos.

Em seguida, foi realizada a aplicação dos questionários autoexplicativos após consultas agendadas com o dermatologista para os portadores que estavam em tratamento. Para os portadores que não estavam em tratamento foram agendadas visitas nas residências dos mesmos para aplicação dos questionários. Ao final, 51

voluntários tiveram interesse em participar do projeto, os 39 portadores restantes por recusa não quiseram participar.

Visando realizar a comparação sobre a percepção do estresse dos portadores com pessoas não portadoras de vitiligo, buscou-se o recrutamento de um grupo de voluntários, sendo estes pareados na idade e sexo.

No hospital do estudo há um hemocentro, onde foi realizado também o recrutamento dos voluntários controles. Inicialmente foram convidadas 100 pessoas via telefone. Os participantes foram abordados nos dias agendados para doação, conseguindo o mesmo quantitativo do grupo caso, 51 participantes, foi utilizado o mesmo fator de exclusão que no grupo caso.

Foram avaliadas 102 pessoas pareadas por idade e sexo, sendo 51 pacientes diagnosticados com vitiligo, que constituíram o grupo caso e os outros 51 não portadores de vitiligo. Foram aplicados aos dois grupos três questionários, após a apresentação dos objetivos do projeto, leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e esclarecimento de dúvidas caso fossem apresentadas pelo voluntário.

O primeiro questionário aplicado constou de variáveis Sócio-demográficas de cada participante: idade, sexo, estado civil, nível de escolaridade, e quando portador, qual era o tempo em anos que tinha o vitiligo e se já haviam sido submetidos a tratamentos, o tipo de vitiligo, localização do vitiligo, padrão de envolvimento e cor da pele.

A seguir, foi aplicado os questionários DLQI-BRA e a escala de Estresse Percebido (PSS-10) ambas validada para o português.¹³

O questionário DLQI-BRA consiste em dez itens relacionados à qualidade de vida específica, divididos em seis domínios: sintomas e sentimentos, atividades diárias, lazer, trabalho/escola, relações pessoais. Cada item tem quatro alternativas para respostas: nada, um pouco, bastante e realmente muito, que correspondem aos escores de 0 a 3, respectivamente.

O escore total do DLQI-BRA foi computado a partir da soma dos índices avaliados e interpretado¹⁴ em: sem comprometimento da qualidade de vida quando os escores estiverem entre (0-1), comprometimento leve (2-5), comprometimento moderado (6-10), grave comprometimento (11-20) e comprometimento muito grave (21-30). Todos os testes foram aplicados considerando o nível de significância de 5% e o intervalo de confiança de 95%.

O escore total foi calculado pela soma dos escores de todas as questões, podendo chegar ao máximo de 30 e mínimo de zero nesta pontuação. Quanto maior o escore, mais comprometida está a qualidade de vida daquele indivíduo.

Por último foi aplicada a escala PSS-10, que contém questões a respeito de sentimentos e pensamentos durante os últimos 30 dias, que foi analisada a partir da somatória dos resultados das 10 questões. O escore total foi obtido pela soma dos valores dos 10 itens, sendo que valores altos significam alto nível de estresse.

A escala PSS-10 foi analisada a partir da somatória dos resultados das 10 questões, tendo anteriormente invertido as questões 4, 5, 7 e 8. Para a obtenção de escores, as questões 4, 5, 7 e 8 têm pontos positivos, sendo que 0 vale 4 pontos e 4 vale 0 pontos. São questões simples compostas por 10 itens, escala tipo Likert, com variação de 0 (nunca) a 4 (quase sempre).

Análise Estatística

Os dados foram analisados com auxílio do programa SPSS. A verificação da normalidade das variáveis quantitativas foi realizada através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Variáveis quantitativas foram apresentadas com média e desvio padrão (DP) ou média, DP, mediana e intervalo interquartil (IIQ) conforme tivessem distribuição normal ou não normal, respectivamente. Variáveis qualitativas foram expressas como frequência absoluta e relativa.

Para a análise de confiabilidade interna das escalas utilizadas (PSS-10 e DLQI) foi aplicado alfa de *Cronbach*, sendo a consistência interna aceitável acima de 0,7.¹⁵

Inicialmente, foi realizada a comparação dos grupos quanto às características sociodemográficas (casos *versus* controles). O teste de qui-quadrado foi usado para verificar diferenças nas proporções entre as variáveis qualitativas. O teste t de *Student*, foi utilizado para comparar diferenças na idade entre os grupos.

Para verificar os fatores associados à qualidade de vida do grupo caso, inicialmente, foi realizada análise bivariada, através dos seguintes testes: coeficiente de correlação de Spearman (r_s), U de *Mann Whitney* ou *Kruskall-Wallis*. A seguir, realizou-se regressão linear múltipla com variância robusta. O modelo relacionado à qualidade de vida (variável dependente) foi ajustado por todas as covariáveis (variáveis independentes): idade (anos), sexo, estado civil, escolaridade, tempo de vitiligo (anos), cor da pele, tipo de vitiligo, padrão de envolvimento, localização do vitiligo, tratamento prévio e estresse percebido (PSS-10).

Para comparação dos escores do estresse percebido (PSS-10) global e por item, foi usado os testes t de *Student* para amostras independentes, com distribuição normal ou U de *Mann Whitney* para itens com distribuição não normal.

Para análises dos fatores associados ao estresse percebido (PSS-10) (variável dependente) também foi utilizado um modelo de regressão linear múltipla, com variância robusta. Neste modelo as seguintes variáveis foram consideradas como independentes: idade (anos), estado civil, escolaridade e o grupo (caso x controle). Todos os testes foram aplicados, considerando o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa na Universidade Federal de Goiás, no ano de 2014 sob o protocolo 38488314.0.0.0000.5083.

Resultados

Participaram do estudo 51 pacientes com vitiligo que estavam inscritos nos prontuários do ambulatório, e fizeram parte do grupo caso e 51 indivíduos do hemocentro, sem diagnóstico de vitiligo, que constituíram o grupo controle.

Os grupos foram semelhantes em relação ao estado civil ($p > 0,149$). Verificou-se proporção maior de indivíduos com maior nível de escolaridade (ensino superior) no grupo controle, quando comparado ao grupo caso ($p = 0,035$).

A maioria dos indivíduos do grupo caso tinha escolaridade até o ensino médio 56,9% e com estado civil casado 56,9%. A média de idade dos casos foi de 44,8 anos \pm 13,4. Ainda, a maioria dos indivíduos 68,6% apresentou tempo de diagnóstico do vitiligo acima de 10 anos (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização clínicas e sociodemográficas de 102 pessoas (grupo caso e grupo controle) Jataí, 2016.

Variáveis	Casos (n = 51)	Controles (n = 51)	P
Idade (anos), média ± DP	44,8 ± 13,5	44,8 ± 13,5	0,982 ^a
Sexo, n (%)			
Masculino	18 (64,7)	18 (64,7)	1,000 ^b
Feminino	33 (35,3)	33 (35,3)	
Estado civil, n (%)			
Solteiro/divorciado/viúvo	22 (43,1)	15 (29,4)	0,149 ^b
Casado	29 (56,9)	36 (70,6)	
Escolaridade, n (%)			
I grau completo/incompleto	11 (21,6)	6 (11,8)	
Ensino Médio	18 (35,3)	10 (19,6)	
Ensino Superior	22 (43,1)	35 (68,6)	0,035^b
Cor da pele			
Branca	18 (35,3)	NA	
Morena moderada	22 (43,1)		
Negra	11 (21,6)		
Tempo de vitiligo (anos), n (%)			
≤ 10	16 (31,4)	NA	-
> 10	35 (68,6)		
Tratamento para vitiligo			
Não	6 (11,8)	NA	
Sim	45 (88,2)		
Tipo de vitiligo			
Não segmentar	45 (88,2)	NA	
Segmentar	6 (11,8)		
Localização do vitiligo			
Localizado	45(88,2)	NA	
Unisegmentar	6 (11,8)		
Padrão de envolvimento			
Área não exposta	24 (47,1)	NA	
Área exposta	27 (52,9)		

a. Teste *t* de *Student* para amostras independentes; b. Teste de qui-quadrado de Pearson; b. NA- não se aplica, * $p < 0,05$

Quanto à cor da pele dos portadores de vitiligo, 35,3% possuíam a cor branca, 43,1% e 21,6% morena moderada¹⁶ e negra respectivamente. Sobre os tipos de vitiligo e localização das manchas, 88,2% foi diagnosticado como tipo não segmentar e localizado e 11,8% como segmentar e unisegmentar. Quanto ao padrão de envolvimento, 47,1% possuíam as manchas em áreas não expostas e 52,9% possuíam as manchas em áreas expostas (Tabela 1).

O tratamento prévio da dermatose foi identificado em 45 voluntários 88,2% e destes 38 referiram tratamento com uso da planta vulgarmente conhecida como mama-

cadela (*Brosimum gaudichaudii*) em suas mais diversas formulações (pomada, chás e comprimidos).

Análise da qualidade de vida

O instrumento DLQI-BRA apresentou confiabilidade interna de (0,869). A média global do DLQI entre os portadores de vitiligo foi 4,7 pontos ($\pm 5,8$; mediana: 3,0; IIQ: 0,0-6,0). Quanto as dimensões do DLQI, os domínios apresentaram escores médios ($1,3 \pm 2,0$; mediana: 0,0; IIQ: 0,0-3,0) para realização de atividades diárias, ($1,1 \pm 1,4$; mediana: 1,0; IIQ: 0,0-2,0) sintomas e sentimentos, ($1,1 \pm 1,6$; mediana: 0,0; IIQ: 0,0-1,0) lazer, seguidos dos domínios relações pessoais ($0,6 \pm 1,0$; mediana: 0,0; IIQ: 0,0-1,0), trabalho e escola ($0,1 \pm 0,4$, mediana: 0,0; IIQ: 0,0-0,0) e ($0,2 \pm 0,4$; mediana: 0,0; IIQ: 0,0-0,0) para o domínio tratamento.

A Tabela 2 apresenta a análise bivariada, dos potenciais fatores, associados a qualidade de vida nos pacientes com vitiligo. Nessa análise verificou-se diferença estatística entre a cor da pele e qualidade de vida ($p = 0,002$). Indivíduos com padrão de envolvimento exposto apresentaram escores mais elevados de qualidade de vida quando comparado aos com padrão não exposto ($p < 0,001$). Ainda, observou-se correlação positiva entre estresse percebido (PSS-10) e qualidade de vida ($r_s = 0,336$; $p = 0,016$).

Tabela 2. Distribuição dos escores do DLQI-BRA em pacientes com vitiligo, de acordo com as condições sociodemográficas e clínica, Jataí, 2016.

Variáveis	DLQI		p
	Média \pm DP	Mediana (IIQ)	
Idade (anos)		-0,103 ^b	0,463 ^b
Sexo			
Feminino	5,1 \pm 6,1	2,0 (0,0-9,0)	0,779 ^c
Masculino	3,9 \pm 5,1	3,0 (0,0-5,2)	
Estado civil			

Solteiro/divorciado/viúvo	4,8 ± 6,4	4,0 (0,0-14,2)	0,699 ^c
Casado	4,6±5,4	3,0 (0,0-6,0)	
Escolaridade			
I grau completo/incompleto	3,8 ± 4,3	3,0 (0,0-7,0)	0,604 ^d
Ensino médio	4,1±5,5	1,5 (0,0-6,0)	
Superior	5,6±6,7	3,0 (1,0-7,5)	
Cor da pele			
Clara	1,3 ± 1,6	1,0 (0,0-2,3)	0,002^d*
Morena moderada	4,5±4,4	4,0 (0,8-6,0)	
Negra	10,5±7,9	11,0 (1,0-18,0)	
Tempo de vitiligo (anos)			
≤ 10	3,8 ± 4,7	2,5 (0,3-4,7)	0,757 ^c
> 10	5,1±6,2	3,0 (0,0-6,0)	
Tratamento para vitiligo			
Não	4,0 ±3,9	3,5 (0,0-7,8)	0,966 ^c
Sim	4,8 ±6,0	2,0 (0,0-6,0)	
Tipo de vitiligo			
Não segmentar	4,8 ± 5,6	3,0 (0,5-6,0)	0,279 ^c
Segmentar	4,0 ± 7,3	0,0 (0,0-9,0)	
Localização			
Localizado	2,3 ± 2,4	2,0 (0,0-4,5)	0,476 ^c
Unisegmental	5,0 ± 6,0	3,0 (0,0-6,5)	
Padrão de envolvimento			
Não exposto	1,1 ± 1,4	0,0 (0,0-2,0)	0,001^c*
Exposto	7,9 ± 6,3	6,0 (3,0-12,0)	
PSS-10		0,336 ^b	0,016^b*

b. Coeficiente de correlação de Spearman; c. Teste *U de Mann-Whitney*; d. Teste de *Kruskal-Wallis*. * $p < 0,05$

Os resultados da regressão linear múltipla dos fatores associados à qualidade de vida são apresentados na Tabela 3. Após ajuste pelas outras covariáveis, observou-se associação entre elevados escores de estresse percebido e pior qualidade de vida (β : 0,22; $p = 0,033$). Ainda, observou-se associação positiva entre a cor negra e qualidade de vida (β : 5,64; $p = 0,030$), assim como o padrão de envolvimento exposto e qualidade de vida (β : 5,22; $p < 0,001$).

Tabela 3. Regressão linear dos fatores associados à qualidade de vida em pacientes com vitiligo.

Variáveis	β^a	IC 95% ^b	EP ^c	t	p
Idade (anos)	-0,01	-0,13; 0,10	0,06	-0,24	0,814
Sexo					
Feminino	Ref. ^d				
Masculino	-1,17	-4,41; 2,06	1,60	-0,74	0,466

Estado civil					
Solteiro/divorciado/viúvo	Ref. ^d				
Casado	-0,88	-3,72; 1,94	1,39	-0,64	0,529
Escolaridade					
I grau completo/incompleto	Ref. ^d				
Ensino médio	-0,08	-3,13; 2,96	1,50	-0,06	0,955
Superior	1,82	-0,84; 4,50	1,31	1,31	0,174
Cor da pele					
Morena moderadas	1,62	-0,95; 3,20	1,27	1,28	0,210
Negra	5,64	0,58; 10,17	2,49	2,26	0,030*
Tempo de vitiligo (anos)					
≤ 10	Ref. ^d				
> 10	-0,30	-3,25; 2,63	1,45	-0,21	0,833
Tratamento para vitiligo					
Não	Ref. ^d				
Sim	-0,60	-3,60; 2,40	1,48	-0,40	0,688
Tipo de vitiligo					
Não segmentar	Ref. ^d				
Segmentar	-0,93	-4,98; 3,11	1,99	-0,47	0,642
Localização					
Localizado	Ref. ^d				
Unisegmental	-1,67	-3,96; 0,62	1,13	-1,48	0,148
Padrão de envolvimento					
Não exposto	Ref. ^d				
Exposto	5,22	2,49; 7,95	1,34	3,88	0,001*
Estresse percebido (PSS-10)	0,22	0,02; 0,43	0,10	2,21	0,033*

a. Coeficiente de regressão; b. Intervalo de confiança de 95%; c. Erro padrão; d. Categoria de referência; R²: 0,594; Modelo ajustado por idade, sexo, estado civil, escolaridade, tempo de vitiligo, cor da pele, tipo de vitiligo, padrão de envolvimento, localização do vitiligo; tratamento prévio e estresse percebido, * p < 0,05.

A análise de confiabilidade interna da PSS-10 apresentou alfa de *Cronbach* de 0,789 para a amostra total, sendo 0,832 para o grupo controle e 0,721 para o grupo caso. O escore médio dos valores do PSS-10 entre os grupos foi 20,7 pontos \pm 6,0 para o grupo caso e 17,8 \pm 7,0 para o grupo controle. Assim, verificou-se que o grupo caso obteve médias mais altas de estresse percebido quando comparado ao grupo controle ($p = 0,029$), (Tabela 4).

Ao fazer a análise exploratória das questões do PSS-10 isoladas, também foi verificado que o grupo caso apresentou valores médios mais elevados nos itens três e nove do que indivíduos do grupo controle ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação entre as médias de estresse percebido entre os grupos (caso e controle)

Variáveis	Casos (n = 51)		Controle (n = 51)		p
	Média + DP	Mediana (IIQ)	Média + DP	Mediana (IIQ)	
Itens					
1. Com que frequência você ficou aborrecido por causa de algo que aconteceu	2,0 \pm 1,1	3,0 (2,0-3,0)	2,4 \pm 1,1	2,4 (2,0-3,0)	0,057 ^b

inesperadamente?						
2. Com que frequência você sentiu que foi incapaz de controlar coisas importantes na sua vida?	2,1 ± 1,3	2,0 (1,0-3,0)	2,1 ± 1,2	2,1 (1,0-3,0)	0,926 ^b	
3. Com que frequência você esteve nervoso ou estressado?	3,1 ± 1,3	4,0 (2,0-4,0)	2,5 ± 1,2	2,5 (2,0-4,0)	0,006^{b*}	
4. Com que frequência você esteve confiante em sua capacidade de lidar com seus problemas pessoais?	0,8 ± 1,1	1,0 (0,0-2,0)	0,9 ± 1,1	0,9 (0,0-2,0)	0,330 ^b	
5. Com que frequência você sentiu que as coisas aconteceram de maneira que você esperava?	1,2 ± 1,0	1,2 (0,0-2,0)	1,1 ± 1,1	1,2 (0,0-2,0)	0,803 ^b	
6. Com que frequência você achou que não conseguiria lidar com todas as coisas que tinham por fazer?	2,3 ± 1,1	2,3 (1,0-3,0)	2,1 ± 1,0	2,1 (1,0-3,0)	0,343 ^b	
7. Com que frequência você foi capaz de controlar irritações na sua vida?	1,2 ± 1,2	1,2 (0,0-2,0)	0,9 ± 1,1	0,9 (0,0-2,0)	0,158 ^b	
8. Com que frequência você sentiu que todos os aspectos e sua vida estavam sob controle?	1,5 ± 1,0	1,5 (1,0-2,0)	1,5 ± 1,1	1,5 (1,0-2,0)	0,955 ^b	
9. Com que frequência você esteve bravo por causa de coisas que estiveram fora do controle?	3,0 ± 1,1	3,0 (2,0-4,0)	2,3 ± 1,2	2,3 (1,0-4,0)	0,004^{b*}	
10. Com que frequência você sentiu que os problemas acumularam tanto que você não conseguiria resolvê-los?	2,2 ± 1,2	2,2 (1,0-3,0)	1,9 ± 1,3	1,9 (1,0-3,0)	0,096 ^b	
PSS-10 total	20,7 ± 6,0	20,0 (17,0-25,0)	17,8 ± 7,0	18,0 (13,0-23,0)	0,029^{b*}	

b. Teste de U Mann-Whitney; * p < 0,05.

A Tabela 5 mostra os resultados do modelo de regressão linear múltipla dos fatores associados ao estresse percebido (PSS-10). Após ajuste por idade, sexo, estado civil, escolaridade e grupo investigado verificou-se que possuir diagnóstico de vitiligo (grupo caso) aumentou em 3,12% pontos o estresse percebido quando comparado ao grupo controle (β : 3,12; p = 0,022).

Tabela 5. Regressão linear múltipla dos fatores associados ao estresse percebido.

Variáveis	β^a	IC 95% ^b	EP ^c	t	p
Idade (anos)	-0,04	-0,17;0,07	0,06	-0,78	0,438
Sexo					
Feminino	Ref. ^d				
Masculino	-2,34	-5,34;0,64	1,50	-1,56	0,123
Estado civil					
Solteiro	Ref. ^d				
Casado	-1,55	-4,86;1,75	1,66	-0,93	0,354
Divorciado/viúvo	-2,96	-8,08;2,15	2,57	-1,15	0,254
Escolaridade					
I grau completo/incompleto	Ref. ^d				
Ensino médio	-2,73	-7,17;1,70	2,23	-1,22	0,224
Superior	-3,24	-7,35;0,86	2,07	-1,57	0,120
Grupo					
Controle	Ref. ^d				
Caso	3,12	0,45;5,79	1,34	2,33	0,022*

a. Coeficiente de regressão; b. Intervalo de confiança de 95%; c. Erro padrão; d. Categoria de referência; R^2 : 0,100;

* $p < 0,05$.

Discussão

A pele é o órgão mais visível do corpo humano, tem sido sugerido que qualquer falha na sua superfície pode impactar negativamente o bem-estar psíquico e social do indivíduo.¹⁷ O vitiligo pode ser considerado uma condição dermatológica que desafia a vida de muitos por razões psicológicas.¹⁸ A estreita relação entre pele e psiquismo é bastante discutida desde sua importância para a constituição do ego até o entendimento da pele como uma via de comunicação com o mundo externo.¹⁹ Através da pele, o indivíduo tem suas emoções expostas ao outro.

No Brasil, este foi o primeiro estudo que avaliou a qualidade de vida específica de portadores de vitiligo, e realizou uma comparação entre o estresse como fator emocional em pessoas portadoras de vitiligo com o estresse de pessoas não portadoras. A partir dos resultados obtidos, fica evidenciada a importância de novos estudos, principalmente no Brasil, que busquem avaliar a influência dos aspectos psico-emocionais presentes na QV, pois o estado de saúde representa o equilíbrio entre as áreas mentais, emocionais, físicas e sociais.²⁰

Quanto às características sociodemográficas dos grupos participantes, o grupo caso, apresentou escolaridade inferior, quando comparado ao grupo controle e quando relaciona este dado com o escore médio $4,7 \pm$ do DLQI do grupo caso, verifica-se que estes resultados não estão correlacionados e corroboram com estudos que também não encontraram qualquer relação entre a pontuação do DLQI e nível educacional dos pacientes com vitiligo²¹.

Já no estudo com 100 portadores de vitiligo, na Índia foi relatado que as pontuações DLQI, foram significativamente correlacionadas de forma negativa com a educação. Suas descobertas sugerem que o ensino superior pode diminuir o sofrimento gerado pelo vitiligo na QV.²²

Autores afirmam que pacientes com vitiligo que possuíam nível educacional mais elevado (ensino superior, mestrado e doutorado) apresentaram escores baixos no DLQI em comparação com os outros indivíduos e salienta que os pacientes com vitiligo, desempenham papel importante na compreensão e gestão da própria doença.²³

O escore médio no DLQI, do presente estudo, foi de $4,7 \pm$ similar às investigações conduzidas em portadores de vitiligo na Itália 4,3 Singapura 4,4, Bélgica 4,9. Constatando comprometimento leve na qualidade de vida dos portadores de vitiligo.^{26,27,28} Por outro lado, outros estudos tem demonstrado escores mais elevados no DLQI em portadores de vitiligo e conseqüentemente maiores prejuízos na qualidade de vida, tais como os conduzidos na Alemanha 7,0, no Iran 8,2 na França 7,2, na China 8,4, na Índia $10,7^{29,30,31,32,21}$ É afirmado que geralmente as pontuações no DLQI são mais elevadas em pacientes árabes iranianos, sauditas e indianos por suas crenças culturais e religiosas, bem como sua cor de pele mais escura.³³

No presente estudo verificou-se associação estatística entre a cor da pele negra e qualidade de vida ($p = 0,002$). Em geral, o vitiligo encontra-se associado a implicações negativas sociais, emocionais, econômicas e psicológicas em indivíduos da cor mais escura quando comparado a cor branca.²¹ Além disso, lesões do vitiligo são especialmente mais marcadas em indivíduos com a pele mais escura.³⁴ O contraste das lesões de vitiligo na pele escura das pessoas pode ser responsável pelo impacto sobre a qualidade de vida desses indivíduos sujeitos a maior discriminação.³⁵

A qualidade de vida foi avaliada também em pessoas da Malásia, da China e índios. A pontuação do DLQI em indivíduos malaios apresentou escores elevados 7,51 em comparação com os chineses 6,6 e com os índios 5,0. Surpreendente, pois, os índios possuem pele com fototipo V ou VI, que pertence a pessoas de pele morena escura e negra respectivamente e, por conseguinte, eles teriam maior comprometimento na qualidade de vida, devido ao contraste das áreas pigmentadas com as despigmentadas.³⁶ Num estudo também descobriram que quanto maior fototipo da pele, segundo classificação de Fitzpatrick¹⁶ maior a pontuação do DLQI, comprometendo a qualidade de vida dos indivíduos portadores de vitiligo.²¹

O vitiligo pode apresentar-se de forma localizada no corpo, em áreas expostas ou não expostas, no entanto, pode espalhar-se e cobrir grandes superfícies corporais.²¹ Alguns estudos tem mostrado que a qualidade de vida em portadores de vitiligo é significativamente afetada pela extensão da doença na superfície corporal.^{37,38,39,32} Por exemplo, pesquisadores encontraram relação estatisticamente significativa entre DLQI e o local das manchas do vitiligo, os pacientes do estudo apresentavam escores mais altos em áreas expostas , comparação com áreas não expostas.³⁶

Os mesmos resultados também foram encontrados na Alemanha com 1023 pacientes com vitiligo e 1513 pacientes com a doença de pele psoríase.²⁹ Na China, foram 101 casos e 126 controles.³¹ No geral, em alguns estudos, a qualidade de vida melhorou após o uso de camuflagem para pacientes com vitiligo que tinham manchas expostas, o que é sugestivo da importância da visibilidade das lesões na qualidade de vida dessas pessoas.³³ De forma semelhante neste estudo, indivíduos com padrão de envolvimento exposto, apresentaram escores mais elevados de qualidade de vida,

quando comparado aos com padrão não exposto ($p < 0,001$), sugerindo o impacto da visibilidade das lesões na qualidade de vida dos portadores.

Com relação ao estresse percebido, a média encontrada no grupo caso foi de $20,7 \pm 6,0$. Também, foi possível verificar que os indivíduos com vitiligo, apresentam níveis mais elevados de estresse global, quando comparado ao grupo controle. Para diversos estudiosos, a pele, além de outras funções, também representa a pessoa como indivíduo único. De acordo com estudos, a dermatite atópica, a psoríase e o vitiligo são doenças de pele crônicas em que o prognóstico, a evolução, os tipos de cuidados requeridos e a visibilidade da condição, constituem fatores que afetam o comportamento do paciente e de seus familiares.⁴⁰ A grande dificuldade enfrentada pelo portador de uma dessas doenças é se tornar alvo constante de discriminação e de preconceito.

Portadores de vitiligo, sentem-se desprezíveis, sujos e intocáveis, temem ser isolados, rejeitados e apresentam fantasias de abandono.⁴¹ Estudo realizado com pacientes com vitiligo e grupo controle com epidermólise distrófica bolhosa, lábio leporino, nervos melanocíticos ou desfiguração secundária a trauma ou queimaduras, demonstrou que os pacientes com vitiligo, apresentaram escores significativamente maiores de estresse, do que grupo controle.⁴²

O grau de estresse entre os indivíduos que possuem dermatose pode ser provocado por diversos fatores emocionais, como por exemplo: baixa autoestima, para esconder as áreas despigmentadas, interferência nos relacionamentos, sentimentos de discriminação diante de algumas ofertas e recusas de trabalhos, discriminação pela população, preocupações sobre a própria dermatose principalmente se é progressiva,

hereditária, ou um prenúncio de câncer⁴². Nesse sentido, os altos níveis de estresse percebido, podem ser explicados por estes fatores.

O estresse é uma resposta adaptativa do organismo, considerando-se características individuais e ou psicológicas, decorrendo em demandas físicas ou psicológicas de cada ser humano.⁴³ Pacientes que sofrem com doenças de pele, sofrem com problemas emocionais, como estresse, ansiedade e depressão, comprometendo a qualidade de vida⁴⁴.

O escore obtido nas questões três e nove da escala PSS-10, indicou que o grupo caso possuía frequência maior de estresse e irritabilidade por causa de coisas que estiveram fora de seu controle, quando comparado com grupo controle. Apesar de ser clara a exposição a que ficam submetidos os portadores de qualquer tipo de dermatose, apresentam queixas e frustrações com relação ao manejo da doença, à ineficácia dos tratamentos e por perceber que o impacto da doença ainda é subestimado pelos profissionais da saúde⁴⁵.

Assim, pode-se dizer que dói também o "não olhar", ou seja, a desqualificação da dor. Doenças crônicas e desfigurantes como a psoríase e o vitiligo e seu impacto psicossocial, podem servir como estressores por si só, podendo resultar em significativo estresse diário e estarem associadas a um intenso sofrimento psíquico. Estima-se que, em pelo menos um terço dos pacientes, um tratamento efetivo envolva considerações acerca dos fatores emocionais associados⁴⁶.

De acordo com os escores obtidos no presente estudo, os principais domínios influenciados pelo vitiligo foram atividades diárias, lazer, sintomas e sentimentos, seguidas por relações pessoais. Os domínios trabalho, escola e tratamento,

apresentaram escores muito baixos, indicando que estes não promovem qualquer prejuízo na qualidade de vida dos indivíduos casos, do presente estudo. Já em outro estudo o principal domínio que influenciou na qualidade de vida dos indivíduos com vitiligo foram sintomas e sentimentos, seguido por relações pessoais, lazer e atividades diárias. O trabalho, escola e tratamento também foram influenciados muito pouco pelo vitiligo.²⁶

No presente estudo, verificou-se uma associação positiva entre elevados escores de estresse percebido e da qualidade de vida. A pele e o sistema nervoso são desenvolvidos a partir da camada de células embrionárias mais externa, a ectoderme, dessa maneira, as fibras do sistema nervoso estão intimamente relacionadas com as células cutâneas, estabelecendo, assim, uma conexão neuroimunitária na pele.⁴⁷ No entanto, aquilo que ocorre na pele é transmitido diretamente ao sistema nervoso central e o que neste se passa repercute sobre a pele.⁴⁸

O vitiligo está no grupo das doenças dermatológicas que afetam a autoestima do portador, podendo desencadear quadros de isolamento e depressão. Além disso, o caráter crônico e inestético do vitiligo está associado a um maior grau de sofrimento psíquico que requer, muitas vezes, intervenção psicológica.⁴⁹

A forma como as pessoas portadoras enfrentam as situações da vida é moldada não é só por aspectos de sua personalidade, mas também pelo estresse que enfrentam, pelos recursos sociais disponíveis e de modo especial, pelas avaliações que fazem acerca do significativo do encontro com o estresse.⁵⁰ Diante disso, as doenças dermatológicas trazem consigo uma série de mudanças na vida de seus portadores, assim como os aspectos da vida (situações estressantes) e os aspectos psicológicos do

indivíduo (as emoções, as crenças e o repertório de enfrentamento de estressores), estas doenças também afetam esses aspectos no que diz respeito à qualidade de vida.⁵¹

Certas limitações são inerentes a este estudo, a primeira é a falta da análise comparativa com outras dermatoses, já que o DLQI é um construto utilizado para avaliar a qualidade de vida relacionada a diferentes tipos de dermatoses. Em segundo, não foi capaz de comparar o resultado de qualidade de vida com um grupo de indivíduos saudáveis controle. Apesar disso, o estudo evidenciou que fatores psicológicos estão fortemente associados à qualidade de vida de pessoas com vitiligo.

Conclusão

A qualidade de vida foi considerada comprometimento leve nos portadores. Verificou-se associação entre a cor da pele negra, padrão de envolvimento exposto e estresse percebido com qualidade de vida. O fato de possuir vitiligo aumentou o nível de estresse.

Este estudo pode ser relevante na prevenção de transtornos psicossociais, pois vê-se que o adoecimento da pele, tanto por ser um órgão visível do corpo, como por trazer prejuízos na qualidade de vida, autoimagem e autoestima dos indivíduos, quando do seu adoecimento, é um tema a ser mais explorado.

É indiscutível que a avaliação da qualidade de vida e do estresse percebido, tem de ser introduzida como indicador fundamental na avaliação prática dos cuidados de saúde, estimulando-se a elaboração de futuros estudos nesta área.

Potencial Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

A pesquisadora¹ foi bolsista pela FAPEG.

Agradecimentos

Agradecemos a colaboração das pessoas que trabalham no ambulatório de dermatologia do Hospital onde houve o recrutamento dos voluntários, para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Alikhan A, Felsten LM, Daly M, and Petronic-Rosic, V. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. *Journal of the American Academy Dermatology*. Sep. 2011, v.65, n.3, p. 473–491.
2. Tarlé RG, Nascimento LM, Mira MT, Castro CC. Vitiligo--part. 1. *An Bras Dermatol*. 2015, v.89, n.3, p.461-70.
3. Alkhateeb A, Fain PR, Thody A, Bennett DC, Spritz RA. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res*. 2003, v.16, p.208-14.
4. Silva de Castro CC, do Nascimento LM, Olandoski M, Mira T. A pattern of association between clinical form of vitiligo and disease-related variables in a Brazilian population. *J Dermatol Sci*. 2012, v.65, p.63-7.
5. Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T, Katayama I, Hamzavi I, Lan CC, Revised classification/ nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res*. Bordeaux, France. 2012, v.25, n. 3, p.1-13.
6. Faria A R, Tarle R G, Dellatorre G, Castro CCS. Mira MT., Vitiligo - Part 2 - classification, histopathology and treatment. *An Bras Dermatol*, 2014 Curitiba - PR, Brasil, v.89, n. 5, p.784-90.
7. Luz LL, Santos SL, Partata AK, Vitiligo e seu Tratamento. Araguaína, *Revista Científica do ITPAC*. 2014, v.7, n.3, p.1-19.
8. Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI) – a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol*. Cardiff, Ucrânia. 1994, v.19, n. 3, p.210-6.
9. Zogbi H, Müller MC, Protas JS, Kieling CM & Driemeier FM. *Avaliação de qualidade de vida em pacientes com dermatoses: Estudo de Adaptação e Validação do Dermatology Life Quality Index (DLQI) para uma amostra Sul- Brasileira*. 667 f.. (Dissertação) Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2004.
10. Thoits, P. A. Stress and Health: Major findings and policy implications. *Journal of Health and Social Behavior*, 51(1), 41-53, 2010. [
11. Steiner D, Perfeito F L. A relação entre stress e doenças dermatológicas. In M. E. N. Lipp, (Org.) *Mecanismos neuropsicofisiológicos do stress: teoria e aplicação clínica*. 2003, São Paulo: Casa do Psicólogo p.111-114.
12. Reis RS, Hino AAF, Añes CRR. Perceived stress scale: reliability and reactivity study in Brazil. London. *J. Health Psychol*, 2010, v.15, n.1, p. 107-14.

13. Silva K S, Silva E A T. Psoriasis and its relation with psychological aspects, stress, and life events. *Estudos de Psicologia*, Campinas SP. 2007.v.24, n.2, p.257-266.
14. Hongbo Y, Thomas CL, Harrison MA, Salek MS, Finlay AY. Translating the Science of quality of life into practice: What do dermatology life quality index scores mean? *J. Invest. Dermatology*, v.125, p. 659-664, 2005.
15. Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Marucha PT, MacCallum R C, Laskowski BF, & Malarkey WB. Stress-related changes in proinflammatory cytokine production in wounds. *Archives of General Psychiatry*. Columbus, Ohio State University Comprehensive Cancer Center, 1999,v.56, n. 5, p.450–456.
16. Fitzpatrick TB, Moshier DB. Pigmentação cutânea e disfunção do metabolismo da melanina In: Isselbacher, Kurt, *Medicina interna*, 9ª ed. Rio de Janeiro 1983.
17. Parsad D, Dogra S, Kanwar AJ. Quality of life in patients with vitiligo. *Health Qual Life Outcomes*,2003; 1(1): 58.
18. Linthorst HMW, Spuls PI, de Korte J et al. The burden of vitiligo: patient characteristics associated with quality of life. *J Am Acad Dermatol* 2009, 61; 61(3): 411–20.
19. Ludwig MW B, Redivo LB, Zogbi H, Hauber L, Facchin TH, Müller MC. Aspectos Psicológicos em dermatologia: avaliação de índices de ansiedade, depressão, estresse e qualidade de vida. São Paulo. *PSIC - Revista de Psicologia*, Vetor Editora, 2006, v. 7, n. 2, p. 69-76.
20. Manolache L, Seceleanu DP Involvement stress as a trigger for different skin conditions *J Dermatol*, 2013, 2 (3): 16-26.
21. Dolatshahi O M, Ghazi P, Feizy V. Life quality assessment among patients with vitiligo: comparison of married and single patients in Iran. *Indian. J.DermatoVenereol Leprol*; 2008, v.74, n.6, p. 695-700.
22. Misha N, Rastogi MK, Gahalaut P. Dermatology specific quality of life in vitiligo patients and its relation with various variables: a hospital based cross-sectional study. *J. Clin. Res. .Diagn. Índia*, v. 8 (6), 2014.
23. Al-Mubarak L, Al-Mohanna H, Al-Issa A, Sanjeev M J, Mulekar V, Quality of Life in Saudi Vitiligo Patients. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery* , Saudi Arabia- Jan-Apr, 2011.v. 4, n.1,p.33-37.
24. Correia, K.L *Psicodermatologia e abordagem cognitivo-comportamental contribuições para o enfrentamento do vitiligo*. 138f. (Dissertação) - Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo; 2011.
25. Leão AR, da Cunha LC, Parente LML, Castro LCAC, Carvalho HE, Rodrigues VB, Bastos MA. Avaliação clínica preliminar do Viticromin em pacientes com vitiligo. *Revista Eletrônica de Farmácia*. v.2 ,n.1, p.12-23, 2005.
26. Ingordo V, Cazzaniga S, Gentile C. Dermatology Life Quality Index score in vitiligo patients: a pilot study among young Italian males. *G Ital Dermatol Venereol*, Itália, 2012.v.147, n. 1, p. 83–90.
27. Chan MF, Chua TL, Goh BK, Aw CWD, Thang TGS, Lee SM: Investigating factors associated with depression of vitiligo patients in Singapore. *J Clin Nurs*, 2011. v.21: 1614–1621.
28. Ongenaes K, Van Geel N, De Schepper S, Naeyaert JM, Effect of vitiligo on self-reported health-related quality of life. *Br J Dermatol*; Bélgica. 2005.v.152, n.6, p. 1165–1172.

29. Radtke MA, Schäfer I, Gajur A, Langenbruch A, Augustin M. Willingness-to-pay and quality of life in patients with vitiligo. Germany. *Br J Dermatol*, 2009, v.161, n.1, p.134–139.
30. Mashayekhi V, Javidi Z, Kiafar B, Manteghi AA, Saadatian V, Esmaili HÁ, Quality of life in patients with vitiligo: a descriptive study on 83 patients attending a PUVA therapy unit in Imam Reza Hospital, Mashad. Irã. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 2010v.76, n.5, p. 592.
31. Kostopolou P, Jouary T, Quintard B, Ezzedine K, Marques S, Boutchnei S, Objective vs. subjective factors in the psychological impact of vitiligo: the experience from a French referral centre. Br, Bordeaux, França. *J Dermatol*, 2009, v.16, n.1, p. 128–133.
32. Wang KY, Wang KH, Zhan, ZP, Health-related quality of life and marital quality of vitiligo patients in China. *J Eur Acad Dermatol Venereol*; 2011, v.25, n.4, p. 429–435.
33. Tanioka M Yamamoto Y Kato M Miyachi Y. Camouflage for patients with vitiligo vulgaris improved their quality of life. *J Cosmet Dermatol*. 2010.v.9, n.1, p. 72–75.
34. Reza Y, Mohammad O, Nooshin B, Vitiligo: *The Journal Dermatology*, Japão, 2011, v.38, n.5, p.419-31.
35. Parsad D, Pandhi R, Dogra S, Kanwar AJ, Kumar B, Dermatology Life Quality Index score in vitiligo and its impact on the treatment outcome. Reino Unido. *Br J Dermatol*; 2003,v.148, n. 2, p. 373–374.
36. Wong S, Baba R. Quality of life among Malaysian patients with vitiligo. *Journal International of Dermatology*, Malasia, 2012.v.51, p.158–161.
37. Beattie PE, Lewis-Jones MSA, comparative study of impairment of quality of life in children with skin disease and children with other chronic childhood diseases. *B. J. Dermatol*, 2005.v.155, p.145-51.
38. Shah M, Coates M, An assessment of the quality of life in older patients with skin disease. *Br J Dermatol*, 2005.v.154, p.150-3
39. Boehncke WH, Ochsendorf F, Paeslack I, Decorative cosmetics improve the quality of life in patients with disfiguring skin diseases. *Eur J Dermatol*; 2002.v.12, p. 577–580.
40. Gon MCC, Rocha MM., Gon A. S. Análise do conceito de estigma em crianças com dermatoses crônicas. *Revista Brasileira de Terapia Comportamental Cognitiva*. Londrina PR, 2005, v.7 n.1, p.15-20.
41. Chiozza LA. Os afetos ocultos em psoríase, asma, transtornos respiratórios, varizes, diabetes, transtornos ósseos, cefaléias e acidentes cerebrovasculares. São Paulo: *Casa do Psicólogo*, 1991, p.19-42.
42. Papadoulos L, Bor L, Leg C, Hawk LM. Impact of life events on the onset of vitiligo in adults: a preliminar evidence for a psychological dimension in a etiology. *Clin Exp Dermatol*; 1998.v.23, n.6, p. 243–248.
43. Batista KM. *Stress e Hardiness entre enfermeiros hospitalares*. 2011. 239 f. (Tese) Universidade Federal de São Paulo, 2011.
44. Kiprono S, Chaula B, Makwaya C, Naafs B, Masenga J: Quality of life of patients with vitiligo attending the Regional Dermatology Training Center in Northern Tanzania. *Int J. Dermatol*, 2013, v.52, p.191–194
45. Silva AK, Castoldi L Kijner LC. The skin expresses affection: a group intervention with psychodermatosis patients. São Leopoldo. *Contextos Clínic*. 2011, vol.4, n.1. p.53-63.

46. Ghajarzadeh M, Ghiasi M, Kheirkhah S, Associations between skin diseases and quality of life: a comparison of psoriasis, vitiligo, and alopecia areata. *Acta Med, Iran.* 2012.v. 50, n.7 p. 511-5.
47. Azambuja RD. Dermatologia integrativa: a pele em novo contexto. *Anais brasileiros de dermatologia*, Rio de Janeiro, v.75(4). p.393-420,2000.
48. Krishna S, Disfigurement: Psychosocial Impact and Coping. Faculty of Medicine, Imperial College London, UK. *The Open Dermatology Journal*, 2009, v.3, p.54-57.
49. Tabora ML, Weber MB, Freitas ES. Assessment of the prevalence of psychological distress in patients with psychocutaneous disorder dermatoses *An Bras Dermatol.* 2005; 80(4):351-4.
50. Skinner BF. *Ciência e comportamento humano* (J. C. Todorov & R. Azzi, Trans.). (11a ed.). São Paulo, 2007.
51. Talsania N, Lam B, Bewley A. Vitiligo is more than skindeep: a survey of members of the Vitiligo Society. *Clin Exp Dermatol: UK.* v.35, n.7, p.736–739, 2010.

Associação entre o polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial e vitiligo

Lacerda, KAP¹; Guilo, LA²; Faria, LC³

RESUMO

Vitiligo é uma doença sistêmica crônica que tem um curso clínico imprevisível. A patogênese ainda não foi esclarecida, porém, existem evidências que alguns polimorfismos de genes estão associados com risco de desenvolvimento do vitiligo. Este estudo objetivou investigar a ocorrência do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em um grupo de pacientes com vitiligo e comparar as frequências dos genótipos com um grupo controle da região centro-oeste do Brasil. O presente estudo incluiu 51 pessoas adultas com vitiligo e 50 pessoas controle. As amostras de sangue total foram obtidas por coleta de sangue venoso periférico em tubo contendo o anticoagulante EDTA, em seguida, realizou-se a extração do DNA. A genotipagem do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp foi realizada por análise de PCR-RFLP. A investigação sobre a associação do polimorfismo do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp com vitiligo, não apresentou diferença significativa na distribuição dos genótipos ($p = 0,05$) e na distribuição das frequências alélicas ($p = 0,138$) entre os portadores de vitiligo e grupo controle. Na análise da associação entre os genótipos e as variáveis localização do vitiligo e cor da pele nos portadores, verificou-se uma maior proporção de genótipos TT em indivíduos com vitiligo unisegmentar 100% e GT em portadores com vitiligo localizado 68,3% ($p = 0,028$). Ainda, no modelo dominante, verificou-se uma proporção significativamente maior de genótipo GG em indivíduos da cor negra 34,5%, enquanto se verificou maior frequência de indivíduos da cor morena moderada com genótipo GG+TT 54,5% ($p = 0,035$). Sabe-se que vários fatores, tais como o perfil genético e etnia da população analisada, podem influenciar no complexo susceptibilidade à doença, portanto, mais estudos são necessários para elucidar o papel do polimorfismo do gene da eNOS na patogênese do vitiligo.

Palavras-chaves: vitiligo; polimorfismo; Glu²⁹⁸Asp; genotipagem

ABSTRACT

Vitiligo is a chronic systemic disease that has an unpredictable clinical course. The pathogenesis has not yet been clarified, however, there is evidence that some gene polymorphisms are associated with risk of developing vitiligo. This study aimed to investigate the occurrence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene (eNOS) in a group of patients with vitiligo and to compare the frequencies of the genotypes with a control group from the central-western region of Brazil. The present study included 51 adult individuals with vitiligo and 50 control subjects. The whole blood samples were obtained by collecting peripheral venous blood in a tube containing the anticoagulant EDTA, after which the DNA was extracted. The genotyping of the Glu298Asp polymorphism was performed by PCR-RFLP analysis. Research on the association of the eNOS Glu298Asp polymorphism with vitiligo did not show a significant difference in the distribution of genotypes ($p = 0.05$) and in the distribution of allelic frequencies ($p = 0.138$) among vitiligo and control subjects. In the analysis of the association between the genotypes and the variables location of vitiligo and skin color in the carriers, a higher proportion of TT genotypes was verified in individuals with 100% unisegmentar vitiligo and GT in patients with vitiligo located 68.3% ($p = 0.028$). Also, in the dominant model, a significantly higher proportion of GG genotype was observed in individuals of black color 34.5%, while a higher frequency of moderate-color individuals with GG + TT genotype was observed 54.5% ($p = 0.035$)) It is known that several factors, such as the genetic profile and ethnicity of the analyzed population, may influence the complex susceptibility to the disease, therefore, further studies are needed to elucidate the role of eNOS gene polymorphism in the pathogenesis of vitiligo.

.Keywords: vitiligo; polymorphism; Glu²⁹⁸Asp; genotyping

INTRODUÇÃO

Vitiligo é uma doença sistêmica crônica, que tem um curso clínico imprevisível, caracterizada pelo aparecimento de manchas hipocrômicas na pele e mucosas, devido ao desaparecimento de melanócitos funcionais na área afetada. Estas lesões podem aparecer em diferentes formas e tamanhos e pode estar presente em qualquer área do tegumento (TARLÉ; MIRA e SILVA CASTRO; 2014).

A patogênese do vitiligo permanece indefinida, embora muitas teorias, como a hipótese auto-imune, a teoria autótoxica, a teoria genética, a teoria neural, a teoria intrínseca e alterações bioquímicas, moleculares e celulares responsáveis por perda de melanócitos em funcionamento no vitiligo foram elaboradas para esclarecer a patogenia do vitiligo e mostrou que era uma doença multifatorial que envolve muitas interações diferentes, segundo Mohammed, Gomaa e Al-Dhubaibi (2015).

A classificação/nomenclatura do vitiligo foi revisada, passando a se adotar a classificação em dois tipos principais, o vitiligo não segmentar (NSV), no qual as lesões se encontram distribuídas bilateralmente e o vitiligo segmentar (SV) que apresenta distribuição unilateral, segundo Ezzedine et al (2012).

Cerca de 40 a 50 milhões de pessoas em todo o mundo têm vitiligo e, embora sua forma primária não seja uma ameaça à vida, os efeitos estéticos e psicológicos da doença demandam para uma terapia eficaz, que depende de um melhor entendimento da sua patogênese, (Ruiz-Argüelles et al 2007).

Determinados fatores genéticos e ambientais têm sido estabelecidos, entretanto, nenhum dos dois emergem como necessários ou suficientes para o entendimento do desenvolvimento da doença. A busca por marcadores genéticos que possam elucidar a etiopatologia do vitiligo, bem como sua evolução clínica, pode fornecer interessantes achados na explicação do intrincado mecanismo na etiologia desta patologia, com isso, o achado de possível polimorfismo genético se faz importante.

As sintetases (NOS) do óxido nítrico são uma família de enzimas que catalisam a produção de óxido nítrico (ON). Existem três isoformas conhecidas, sendo duas formas constitutivas (cNOS) e uma forma induzida (iNOS), segundo Alderton; Cooper e Knoles (2001). As isoformas constitutivas são a sintetase de óxido nítrico endotelial (eNOS) e a de óxido nítrico neuronal (nNOS).

O gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) está localizado no cromossomo 7 (Gen Bank D26607), mais especificamente no braço longo do cromossomo 7, na região 7q35-36, apresentando este, peso molecular de 4.4kb, compreendendo 25 íntrons e 26 éxons, responsáveis pela síntese do RNA mensageiro (RNAm) de 4052 nucleotídeos (Abramson, et al 2001). A codificação do gene da eNOS, leva a formação de uma enzima de cadeia polipeptídica contendo 1203 aminoácidos e um peso molecular de 135-kD segundo, Marsden et al (1993).

Um polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) denominado Glu²⁹⁸Asp localizado no éxon 7, caracterizado pela presença de uma Guanina (G – mais comum) e uma timina (T – mais raro) no nucleotídeo 894, a presença de G e T acarreta mudanças do aminoácido glutamato por aspartato na posição 298 (Glu²⁹⁸Asp) da proteína eNOS, de acordo com De Marco (2010).

Esse tipo de SNP, denominado estrutural, é geralmente, responsável por mudanças na estrutura protéica com perda ou redução da função original ou da capacidade de ligação da mesma, (Nussbaum et al 2002).

A eNOS é responsável pela conversão de L-arginina, um aminoácido semi-essencial, em óxido nítrico (NO) e (L-citrulina), (Markus et al 1998). O óxido nítrico tem propriedades antioxidantes, que resultam na inibição da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), tem ações antiapoptóticas sobre as células endoteliais, Siasos et al (2006) e regula os níveis de homocisteína, cuja elevação é um importante fator de risco para a doença cardiovascular, (Brown et al 2003).

Os efeitos biológicos do ON são extremamente variáveis, de acordo com o local, produção e quantidade gerada em alvos no ambiente onde é liberado. Múltiplos fatores são importantes em determinar o papel duplo do ON, fisiológico e fisiopatológico (Abramson, 2001).

Embora as mutações do gene da eNOS tenha sido extensivamente estudada em doenças cardiovasculares (CVD), existem dados limitados sobre o seu papel nas doenças inflamatórias (Petri, 2002).

Há uma relevância muito grande para a saúde pública a identificação dos loci que estiverem associados com o risco de desenvolvimento de vitiligo, pois estes genes podem proporcionar novos alvos terapêuticos para novas abordagens intervencionais para tratar e prevenir o vitiligo.

A presente pesquisa teve como objetivo investigar a ocorrência o polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em um grupo de pacientes com vitiligo e comparar as frequências dos genótipos com um grupo controle da região centro oeste do Brasil.

Delineamento

Foi realizado um estudo descritivo de corte transversal no Serviço de Dermatologia do Hospital Público no de Jataí no Sudoeste Goiano, dos registros de pacientes que foram diagnosticados com vitiligo no período dos anos de 2012 e 2013. A pesquisa foi realizada com os portadores que tratam a doença no ambulatório do hospital, devido este ser o serviço público de maior demanda na cidade.

O estudo foi realizado no período de janeiro de 2014 a janeiro de 2015, foram revisados 730 prontuários e nestes foram encontrados 90 pacientes diagnosticados com vitiligo. Nos prontuários havia número do telefone de cada paciente, logo foi realizado o contato via telefone e feito um agendamento da visita para a explanação e objetivos do projeto. Foi utilizado como critério de exclusão, idade menor de 18 anos para participar do projeto.

No primeiro encontro, foi explanado os objetivos do projeto e, 51 participantes aceitaram participar (grupo caso), assinando o termo de consentimento livre e esclarecido, os 39 portadores restantes por recusa não quiseram participar.

No referido hospital funciona um hemocentro desde o ano 1992, em média são atendidos 20 doadores por dia. No hemocentro foi realizada uma triagem dos doadores que poderiam participar como voluntários para compor o grupo controle na pesquisa. Após convite, 50 voluntários aceitaram. Estes foram pareados com grupo caso (possuíam vitiligo) na idade e gênero por ser um estudo caso-controle.

Num segundo encontro, foi aplicado o questionário a todos os voluntários do projeto, sobre a caracterização das amostras quanto aos dados sociodemográficos.

Amostragem e Extração do DNA

Foram coletados 10mL de sangue venoso periférico, de todos voluntários da pesquisa, logo, as amostras foram refrigeradas de 2 a 8° C até a utilização das mesmas. Em seguida, realizou-se a extração do DNA, utilizando o protocolo estabelecido pelo Kit Purelink™ (Invitrogen, USA).

A genotipagem do Polimorfismo Glu²⁹⁸Asp foi realizada por análise de PCR-RFLP, tal como descrito por Hingorani et al (1999).

Os iniciadores de PCR para o polimorfismo Glu²⁹⁸Asp foram adquiridos pela (Gibco, invitrogen - USA), nas sequências: 50-CATGAGGCTCAGCCCCAGAAC-30 (*sense*) e 50-AGTCAATCCCTTTGGTGCTCAC-30 (*antisense*). A reação de PCR foi realizada em um volume final de 50 µL com a seguinte composição: 50 ng de DNA genômico (até 3 µL), 45 µL mastermix, 2 µL primer e água destilada ultrapura (Gibco, Invitrogen, USA).

A PCR foi realizada em termociclador (Techne Inc), nas seguintes condições de ciclagem: desnaturação inicial a 95°C durante 5 minutos, seguido por 30 ciclos de desnaturação, anelamento e extensão (95°C por 1 min, 60°C por 1 min, e 70°C por 1 min). A extensão final da reação ocorreu a 70°C por 5 min.

O controle positivo utilizado foi DNA de amostra de sangue (de outros estudos) já apresentando o polimorfismo em homozigose TT (já comprovado) e controle negativo trata-se de controle negativo da reação de PCR: reação na ausência de DNA (branco).

Após amplificação por PCR, os produtos resultantes de 206pb foram digeridos com a enzima de restrição Mbol (Promega-USA) a 37°C por 6h com 1,0 µL de enzima em um shaker (Vortemp 56, Labnet). Produtos amplificados e digeridos contendo o alelo G (sem o sítio de restrição) geraram um fragmento de 206 pb, enquanto os

produtos de PCR contendo o alelo T (com sítio de restrição) produziram dois fragmentos um 119 e outro com 87 pb

Os produtos da digestão foram analisados em gel de agarose a 3%, e visualizados após a coloração com gel red e visualizados em um transluminador.

Análise Estatística

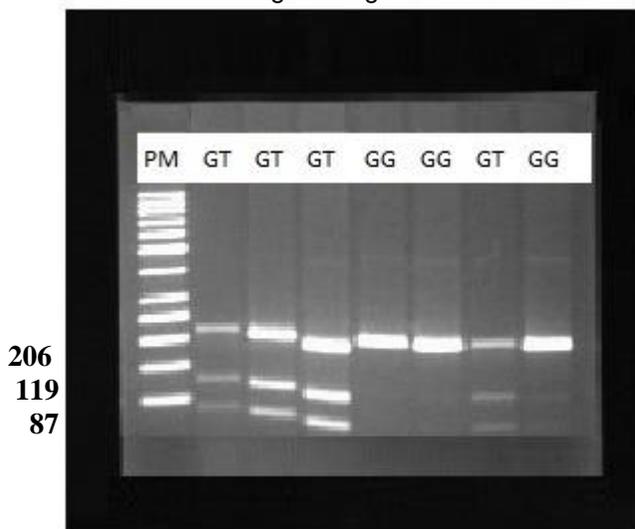
Os dados foram analisados no programa SPSS, Inicialmente, as distribuições dos genótipos foram apresentadas em frequências absolutas e relativas, o teste de qui-quadrado foi utilizado para: a) comparar as diferenças das distribuições dos genótipos observados e esperadas no equilíbrio de *Hardy-Weinberg* em cada grupo (avaliação intragrupo) e b) comparar as diferenças das distribuições genotípicas entre os grupos caso e controle (avaliação intergrupos).

A seguir, foi realizada uma análise univariada, por meio de regressão logística, para comparar as diferenças nas distribuições genotípicas e alélicas, entre os grupos caso e controle, obtendo-se odds ratio bruto e respectivos intervalos de confiança 95%, valores de p foram derivados da estatística de Wald segundo, Dafni et al (2010). Em todos os testes os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados

O perfil de bandas obtidas após PCR-RFLP do gene eNOS e identificação do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp. Linha 1 padrão de Peso molecular (PM), Linha 2,3,4,7 indivíduos heterozigotos G/T. Linha 5,6,8 indivíduos homozigotos GG (Figura 1). O alelo selvagem (GG) com 206 pb, enquanto a presença de fragmentos 119 e 87 pb representam o alelo mutante.

Figura 1. Padrão de bandas obtidas após digestão dos produtos amplificados com a enzima MBOI e submetidos a eletroforese em gel de agarose 3%.



Gel de agarose 3% para o polimorfismo Glu²⁹⁸Asp

A Tabela 1. Apresenta a distribuição dos genótipos observados no estudo, assim como os resultados esperados no teste de equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. Não se verificou diferença estatística na distribuição observada e esperada no grupo controle, sugerindo que as populações se encontram em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

Tabela 1. Distribuição dos genótipos observados e esperados no equilíbrio de *Hardy-Weinberg* nos grupos caso e controle

Genótipo	Grupo controle (n=50)		p ^a	Grupo caso (n=51)		p ^a
	Observado	Esperado ^b		Observado	Esperado ^b	
GG	19 (38,0)	21,8 (43,5)	0,079	29 (56,9)	29,1 (57,0)	0,961
GT	28 (56,0)	22,4 (44,9)		19 (37,3)	18,9 (37,0)	
TT	3 (6,0)	5,8 (11,6)		3 (5,9)	3,0 (6,0)	

a. Teste de qui-quadrado; b. esperado no equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

Não se verificou diferença estatística na distribuição dos genótipos entre os grupos caso e controle. Da mesma forma, não foi observado essa diferença nas frequências alélicas entre os grupos ($p = 0,138$) (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição das frequências alélicas e genotípicas em pacientes com vitiligo e grupo controle.

Variáveis	Controles (n = 50)	Casos (n = 51)	OR ^b (IC 95%) ^c	p^a
Frequência alélica				
G	66 (66,0)	77 (75,5)	1,00	
T	34 (34,0)	25 (24,5)	0,63 (0,34-1,21)	0,138
Genótipos				
GG	19(38,0)	29 (56,9)	2,24 (0,99-5,11)	0,053
GT	28 (56,0)	19 (37,3)	1,00	
TT	3 (6,0)	3 (5,8)	1,47 (0,26-8,09)	0,655
Modelo dominante				
GG	19 (38,0)	29 (56,9)	2,15 (0,97-4,76)	0,059
GT+TT	31 (62,0)	22 (43,1)	1,00	0,059
Modelo recessivo				
TT	3 (6,0)	3 (5,9)	1,00	
GG+GT	47 (94,0)	48 (94,1)	1,02 (0,19-5,31)	0,980

a. Valores de p derivados da estatística de Wald; b. *Odds ratio*; c. Intervalo de confiança de 95%.

A Tabela 3 apresenta a associação entre os genótipos e variáveis pré-selecionadas em portadores de vitiligo. Verificou-se uma maior proporção de genótipos TT em indivíduos com vitiligo unisegmentar 100% e GT em portadores com vitiligo localizado 68,3% ($p = 0,028$). Ainda, no modelo dominante, verificou-se uma proporção significativamente maior de genótipo GG em indivíduos da cor negra 34,5%, enquanto se verificou maior frequência de indivíduos da cor morena moderada com genótipo GG+TT 54,5% ($p = 0,035$).

Tabela 3. Associação entre genótipos e variáveis pré-selecionadas em portadores de vitiligo

Variáveis	Genótipos			p	Modelo dominante		p	Modelo recessivo		p
	GT (n = 19)	GG (n = 29)	TT (n = 3)		GG (n = 29)	GT+TT (n = 22)		TT (n = 3)	GG+GT (n = 48)	
Idade (anos)	48,0 ± 12,7	42,8 ± 14,4	43,3 ± 4,0	0,435 ^a	42,9 ± 14,4	47,4 ± 12,0	0,242 ^b	43,3 ± 4,0	44,9 ± 13,9	0,848 ^b
Sexo										
Feminino	13 (68,4)	18 (62,1)	2 (66,7)	0,901 ^c	18 (62,1)	15 (68,2)	0,651 ^c	2 (66,7)	31 (64,6)	1,000 ^c
Masculino	6 (31,6)	11 (37,9)	1 (33,3)		11 (37,9)	7 (31,8)		1 (33,3)	17 (35,4)	
Estado civil										
Solteiro/divorciado/viúvo	6 (31,6)	13 (44,8)	2 (66,7)	0,430 ^c	13 (44,8)	8 (36,4)	0,543 ^c	2 (66,7)	19 (39,6)	0,561 ^c
Casado	13 (68,4)	16 (55,2)	1 (33,3)		16 (55,2)	14 (63,6)		1 (33,3)	29 (60,4)	
Escolaridade										
I grau completo/incompleto	5 (26,3)	4 (13,8)	1 (33,3)	0,247 ^c	4 (13,8)	6 (27,3)	0,326 ^c	1 (33,3)	9 (18,8)	0,298 ^c
Ensino médio	4 (21,1)	13 (44,8)	2 (66,7)		13 (44,8)	6 (27,3)		2 (66,7)	17 (35,4)	
Superior	10 (52,6)	12 (41,4)	-		12 (41,4)	10 (45,5)		-	22 (45,8)	
Cor da pele										
Clara	8 (42,1)	9 (31,0)	1 (33,3)	0,140 ^c	9 (31,0)	9 (40,9)	0,035^c	1 (33,3)	17 (35,4)	0,577 ^c
Morena moderada	10 (52,6)	10 (34,5)	2 (66,7)		10 (34,5)	12 (54,5)		2 (66,7)	20 (41,7)	
Negra	1 (5,3)	10 (34,5)	-		10 (34,5)	1 (4,5)		-	11 (22,9)	
Tempo de vitiligo (anos)										
≤ 10	3 (15,8)	8 (27,6)	-	0,402 ^c	8 (27,6)	3 (13,6)	0,312 ^c	-	11 (22,9)	1,000 ^c
> 10	16 (84,2)	21 (72,4)	3 (100,0)		21 (72,4)	19 (86,4)		3 (100,0)	37 (77,1)	
Tratamento para vitiligo										
Não	2 (10,5)	4 (13,8)	-	0,762 ^c	4 (13,8)	2 (9,1)	0,688 ^c	-	6 (12,5)	1,000 ^c
Sim	17 (89,5)	25 (86,2)	3 (100,0)		25 (86,2)	20 (90,9)		3 (100,0)	42 (87,5)	
Tipo de vitiligo										
Não segmentar	16 (84,2)	26 (89,7)	3 (100,0)	0,686 ^c	26 (89,7)	19 (86,4)	1,000 ^c	3 (100,0)	42 (87,5)	1,000 ^c
Segmentar	3 (15,8)	3 (10,3)	-		3 (10,3)	3 (13,6)		-	6 (12,5)	
Localização										
Localizado	13 (68,4)	11 (37,9)	-	0,028^c	11 (37,9)	13 (59,1)	0,134 ^c	-	24 (50,0)	0,238 ^c
Unisegmental	6 (31,6)	18 (62,1)	3 (100,0)		18 (62,1)	9 (40,9)		3 (100,0)	24 (50,0)	
Padrão de envolvimento										
Área exposta	7 (36,8)	19 (65,5)	2 (66,7)	0,136 ^c	10 (34,5)	9 (40,9)	0,080 ^c	2 (66,7)	26 (54,2)	1,000 ^c
Área não exposta	12 (63,2)	10 (34,5)	1 (33,3)		19 (65,5)	13 (59,1)		1 (33,3)	22 (45,8)	

a. Análise de variância (ANOVA); b. Teste *t* de *student*; c. Teste de qui-quadrado.

Discussão

Neste estudo foi investigada a ocorrência de polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em um grupo de pessoas com vitiligo e comparou-se as frequências dos genótipos com grupo controle. A distribuição do genótipo do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp em pessoas com vitiligo e grupo controle apresentou estarem em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

O grupo controle apresentou uma frequência maior do genótipo GT 56%, seguido do par GG 38% e por último o par TT 3,0%, seguindo os padrões de distribuição genóticas observados por Rossi et al., (2003) e Metzger et al., (2007) que realizaram estudos populacionais onde avaliaram a distribuição do polimorfismo para o gene da eNOS.

Já o grupo caso de nosso estudo, apresentou inversão na frequência, com predominância do genótipo GG 56,9% seguido por GT 37,3% e por último TT 5,9%, no entanto, não se verificou diferença estatística na distribuição dos genótipos para o polimorfismo eNOS entre os grupos caso e controle.

Na verificação da ocorrência da associação dos genótipos GG, GT e TT, as variáveis localização do vitiligo e cor da pele apresentaram associações.

Os portadores com vitiligo unisegmentar apresentaram serem associados ao genótipo TT, enquanto os portadores de vitiligo localizado foram associados ao genótipo GT. Também foi verificada uma proporção significativa do genótipo GG em indivíduos com pele negra e uma maior frequência de indivíduos da cor morena moderada com genótipo GG+TT.

Polimorfismo localizado no exon 7, Glu²⁹⁸Asp, altera a estrutura primária da proteína, o que poderia levar a alterações funcionais na enzima. Estudos tem relacionado esse polimorfismo à hipertensão, doença arterial coronariana (CAD) e espasmos coronários, enquanto outros não encontraram associação com (CAD) ou hipertensão, segundo Albrecht et al, (2003) e Janchymova et al (2001). O polimorfismo Glu²⁹⁸Asp foi associado a uma produção basal de óxido nítrico (ON) reduzida, podendo levar implicações funcionais no desenvolvimento de aterosclerose e hipertensão (Veldman,2001)

Este é o primeiro estudo a investigar o polimorfismo do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp em pessoas com vitiligo. Embora não se tenha encontrado uma associação entre o polimorfismo e vitiligo, é possível que com uma população maior possa indicar um papel para este polimorfismo na patologia do vitiligo.

Neste primeiro estudo relatado, apresenta resultados não significantes estatisticamente, mas são potencialmente importantes e requerem mais uma confirmação em outras populações com grupos maiores.

Recentemente, um estudo de associação ampla do genoma (GWAS) foi publicado onde vários genes potenciais demonstraram forte associação com vitiligo (SHEN et al 2016).

Foram identificados loci associados ao vitiligo- TG / SLA e BACH2 na população branca europeia, onde o gene TG codifica tiroglobulina, SLA codifica proteína adaptadora Src como um inibidor de T e a sinalização do receptor de células-B. Não é aparente o papel que a tiroglobulina poderia desempenhar na patogênese vitiligo, mas sugere a associação de vitiligo com o TG / locus SLA pode derivar de SLA, em vez de TG, (Jin et al. 2012).

O mesmo autor demonstrou associação para o vitiligo nível do genoma com rs2111485 *SNP* em *IFIH1* e também mostrou associação sugestiva de *SNPs* (nt 90.941.239-91.915.693) abrangendo *BACH2* com vitiligo, particularmente rs3757247, confirmado pelo estudo de replicação e meta-análise global.

Uma meta-análise foi conduzida da associação entre *PTPN22* 1858 polimorfismos C / T e vitiligo, e encontraram *PTPN22* polimorfismo C1858T está associada a susceptibilidade vitiligo na população europeia segundo, (Song; Kim; Lee 2013).

Os genes *CXCR5*, *CCR6*, e *SH2B3* são receptores de quimiocina ou codificam citocinas. Análises de associação identificou que rs638893 em 11q23.3 está associada com vitiligo na população chinesa Han e, rs638893 está localizado numa região intergênica entre *CXCR5* e *DDX6* (TANG et al 2013).

Como o vitiligo, a psoríase é uma doença crônica inflamatória, com manifestações características na pele e de etiologia desconhecida, mas sabe-se que múltiplos fatores genéticos (Rahman and Elder, 2005), imunológicos e ambientais (Raychaudhuri, 2012) contribuem para a sua patofisiologia. Foi realizado um estudo na Turquia por Senturk et al (2006) onde também avaliaram a associação do polimorfismo da eNOS com 109 pacientes com doença psoríase e 100 voluntários saudáveis. Os genótipos GT e TT apresentaram maiores frequências em relação aos controles. A frequência do alelo T também foi maior nos pacientes em relação aos controles. Diante disso, mais estudos com população maiores são necessários para elucidar o papel do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) com o vitiligo.

Certas limitações são inerentes a este estudo. A primeira é a amostra, provavelmente pequena para um estudo genético (n = 51). Além disso, estudos

genéticos atuais não se baseiam na análise de apenas um gene, mas de um conjunto de haplótipos relacionados ou mesmo milhares de polimorfismos genéticos simultaneamente.

Conclusão

A investigação sobre a associação do polimorfismo do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp com vitiligo, não apresentou diferença significativa na distribuição dos genótipos entre os portadores de vitiligo e grupo controle. Da mesma forma, não observou diferença significativa nas frequências alélicas entre os portadores de vitiligo e não portadores.

Na análise da associação entre genótipos e as variáveis, localização do vitiligo e cor da pele nos portadores de vitiligo, verificou-se uma maior proporção de genótipos TT em indivíduos com vitiligo unisegmentar, GT em portadores com vitiligo localizado, uma proporção significativamente maior de genótipo GG em indivíduos da cor negra, enquanto maior frequência de indivíduos da cor morena moderada com genótipo GG+TT.

Sabe-se que vários fatores, tais como o fundo genético e etnia da população analisada, podem influenciar no complexo susceptibilidade à doença, portanto, mais estudos são necessários para elucidar o papel polimorfismos da eNOS na patogênese das manifestações clínicas do vitiligo.

Potencial Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

A pesquisadora¹ foi bolsista pela FAPEG.

Referências

- ABRAMSON S.B Amin A.R Clancy R.M Attur M. The role nitric oxide in tissue destruction. **Best. Pract. Res. Clin, Rheumatol** v.15 (5) p.831-45, 2001.
- ALDERTON W.K Cooper C.E. Knoles, R.G. Nitric Oxide Synthases: structure, function, and inhibition. **Biochem**, v.357, p. 593-615, 2001.
- ALBRECHT E. Stegeman C.A Heeringa P. Henning Van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthesis, **J. Pathol**, v.199, p. 8-34, 2003.
- BROWN K.S L.A.J Kluijtmans I.S Young J. Woodside J. W.G. Yarnell D. McMaster L. Murray A.E.Evans C.A Boreham H. Evidence That Nitric Oxide Modulates Homocysteine: TheNOS3 894TT Genotype Is a Risk Factorfor Hyperhomocystenemia. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**; v.23(6), p. 1014 – 1020, 2003.
- DAFNI C. Drakoulis N. Landt O. Panidi D. Reczko M. Cokkinos. D.V Association of the eNOS E298D polymorphism and the risk of myocardial infarction in the Greek population. Greece, **BMC Medical Genetics**, p,11-133. 2010.
- DE MARCO K.C. **Avaliação da Interação entre os polimorfismos da éxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e a biodisponibilidade sistêmica do óxido nítrico em indivíduos epostos a mercúrio.** Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2010.Universidade de São Paulo.
- EZZEDINE K. Lim H.W Suzuki T et al. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. **Pigment Cell Melanoma Res**; v.25: p.1–13, 2012.
- HINGORANI A.D Liang C.F Fatibene J. Lyon A. Monteith S. Parsons A. Haydock, S. Hooper, R.V Stephens N.G O'shaughnessy K.M et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. **Circulation**; v.100, p.1515– 1520, 1999.
- JACHYMOVA M. Horky K. Bultas J. Kozich V. Jindra A. Peleska J. Association Glu298Asp synthase gene polymorphism in the endothelial nitric oxide with essential hypertension resistant to conventional therapy. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 284, p. 426-430, 2001.
- JIN Y Birlea S.A Fain P.R Ferrara T.M Ben S. Riccardi S.L, et al. Associação em todo o genoma analisa identificar 13 novos loci susceptibilidade para vitiligo generalizado. **Nat. Genet.** 44, p. 67-680, 2012.

MARKUS H.Y Ruigrok N Ali J.F. Powell. Endothelial Nitric Oxide Synthase Exon 7 Polymorphism. **Ischemic Cerebrovascular Disease, and Carotid Atheroma Stroke**, v.29, p.1908-1911, 1998.

MARSDEN P.A Heng H.H Scherer S.W Stewart R.J Hall A.V Shi X.M. Tsui L.C Schappert K.T. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. **J. Biol Chem**. v. 268, p. 17478-17488, 1993.

METZGER I. F Sertório J. T Tanus-santos J. E. Modulation of nitric oxide formation by endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes. **Free Radic Biol Med**, v.43, n.6, p.987-92, 2007.

MOHAMMED G.F Gomaa A.H Al-Dhubaibi M.S. Highlights, in pathogenesis of vitiligo. **World J. Clin. Casos** v.3 p.221-230, 2015.

NUSSBAUM R.L McInnes R.R Willard H.F. Variação genética em indivíduos: mutação e polimorfismo. In: Motta PA, editor. **Genética médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.69-82, 2002.

PETRI M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus; Best Pract. Res. **Clin. Rheumatol**, v.16 (5): P. 847-58. 2002.

RAHMAN, P. Elder, J.T. Genetic epidemiology of psoriasis and psoriatic arthritis. **Annals of the rheumatic diseases** 64 Suppl 2, ii37-39; discussion ii40-31, 2005.

RAYCHAUDHURI, S.P. 2012. A Cutting Edge Overview: **Psoriatic Disease**. Clin Rev Allergy Immunol.

ROSSI G. P Taddei S. Virdis A. Cavallin M. Giadonii, L. Favilla S. The T-786C and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients, **J. Am. Coll Cardiol**, v. 41, n 6, p. 938-945, 2003.

RUIZ-ARGUELLES A. Brito G. J. Izquierdo P. R. Romano B. P. Sanchez -Sosa S. Apoptosis of melanocytes in vitiligo results from antibody penetration. **Journal of Autoimmunity**, v.29, p. 281-286,2007.

SHEN C. Gao J. Sheng Y. Dou J. Zhou F. Zheng X Ko R. Tang X. Zhu C. Yin X. Sun L. Cui Y. Zhang X. Genetic Susceptibility to Vitiligo: GWAS Approaches for Identifying Vitiligo Susceptibility Genes and Loci. **J. Front Genet**. v.7, p. 1-12, 2016.

SIASOS G.D. Tousoulis C. Antoniadou E. Watanabe A, C. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: An alternative treatment for premature atherosclerosis? **International Journal of Cardiology** v.116 (3), p. 300-308, 2006.

SONG G Kim J.H Lee Y.H. The CTLA-4 +49 A/G, CT60 A/G and PTPN22 1858 C/T polymorphisms and susceptibility to vitiligo: a meta-analysis. **Mol. Biol. Rep.**, v.40, p.2985-2993, 2013.

TANG X.F Zhang Z. Hu D.Y, Xu A.E Zhou H.S Sun L.D. Associação analisa identificar três susceptibilidades Loci de vitiligo na população chinesa Han. **J. Investir. Dermatol.** 133 403-410, 2013.

TARLÉ R.G Nascimento L.M Mira M.T Silva de Castro C.C.Vitiligo - Part 1. **An Bras Dermatol.**v.89(3), p.461-70, 2014.

VELDMAN B. Rongen G. Functional gene testing of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase. **J. Hypertens;** v.19, p.1341–1342, 2001.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo envolveu abordagem tanto a nível molecular na eminência de elucidar o loci associado a doença vitiligo, quanto a nível psicológico, utilizando instrumentos de avaliação da qualidade de vida e percepção do estresse dos portadores. A realização desse estudo permitiu conhecer um pouco sobre algumas das variáveis presentes no contexto em que estão inseridos os portadores de vitiligo.

A Qualidade de vida foi considerada comprometimento leve na qualidade de vida dos portadores, porém, verificou-se associação estatística entre a cor da pele negra e qualidade de vida, evidenciando que o vitiligo se encontra associado a implicações negativas sociais, emocionais, econômicas e psicológicas em indivíduos da cor mais escura quando comparado a cor branca.

Com relação ao estresse, os indivíduos com vitiligo, apresentaram níveis mais elevados de estresse, quando comparado ao grupo controle.

Diante disso, uma contribuição desta Tese é uma proposta aos profissionais da saúde, que ao prestar auxílio ao paciente, o dermatologista deve considerar esse aspecto da dermatose e oferecer uma abordagem mais humanizada e multiprofissional do problema, onde devem ser tratados de forma abrangente, tanto no que diz respeito à doença em si, quanto ao componente psicológico inculcido na gênese da doença.

O foco principal do artigo dois foi avaliar a frequência do polimorfismo Glu²⁹⁸Asp do gene óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) através do método PCR-RFLP, em voluntários com vitiligo, voluntários controles e determinar as frequências alélicas e genótípicas de cada polimorfismo em ambas as populações.

Não foi encontrada associação entre o polimorfismo do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp nos portadores de vitiligo da pesquisa. Porém, o estudo demonstrou também associações dos

genótipos TT, GT e GG com as variáveis localização unisegmentar do vitiligo, vitiligo localizado e pele negra, respectivamente.

Este estudo possui muita relevância para a saúde pública, pois a identificação dos loci que estiverem associados com o risco de desenvolvimento de vitiligo, podem proporcionar novos alvos terapêuticos e profiláticos para novas abordagens intervencionais para tratar e prevenir o vitiligo.

Neste sentido, o presente estudo fornece informações exploratórias relevantes e pioneiro, pois foi o primeiro estudo a investigar o polimorfismo do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp em pessoas com vitiligo no País.

Ressalta-se, porém, a necessidade de outras investigações, com maior tamanho amostral, para descartar, de forma inequívoca, o papel do gene eNOS Glu²⁹⁸Asp e seu polimorfismo na patologia do vitiligo.

REFERÊNCIAS

- ABDULRAHMAN A.A.A. Gao X.H. Quality of life in patients with vitiligo: an analysis of the dermatology life quality index outcome over the past two decades. **International Journal of Dermatology**, v. 55, p.608–614, 2016.
- ABRAMSON S.B. The role of nitric oxide in tissue destruction. **Best Pract Res Clin, Rheumatol**, v.15(5), p.831-45, 2001.
- ANTELO D.P Filgueira A.L Cunha J. M. T. Immunological aspects of vitiligo. Faculdade de Medicina-UFRJ.Brasil. **Revista Medicina Cutânea Ibero Latino Americana** v.36(3), p.125-136, 2008.
- BADÍA X. Mascaró J.M. Lozano R. Measuring health-related quality of life in patients with mild to moderate eczema and psoriasis: clinical validity, reliability and sensitivity to change of the DLQI. **British Journal of Dermatology**, 141 (4), 698-702, 1999.
- BALASUBRAMANIAN S.P.; Cox A. Brown N.J Reed M.W. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. **Eur J Surg Oncol**, v. 30, p. 593-601, 2004.
- BARNES L. **Vitiligo and the Vogt-Koanagi-Harada syndrome**. *Dermatol. Clin*, 1988, 4p.
- BIRLEA S.A Gowan K. Fain P.R, Spritz R.A. Estudo de associação em todo o genoma de vitiligo generalizado em uma população fundadora Europeu isolado identifica SMOC2, em estreita proximidade com IDDM8. **J. Investir. Dermatol.** 130 798-803, 2010.
- BROWN K.S. L A.J. Kluijtmans I. S Young J. Woodside J.W.G. Yarnell D. McMaster L. Murray A. E.Evans C.A Boreham H. Evidence That Nitric Oxide Modulates Homocysteine: TheNOS3 894TT Genotype Is a Risk Factorfor Hyperhomocystenemia. *Arteriosclerosis. Thrombosis and Vascular Biology*; v.23 (6), p. 1014 – 1020, 2003.
- CARROBLES J.A.I Remor E.A.Version Espanolade la escala de estres percibido (PSS-14): Estudio psicometrico en una muestra VIH+ [Spanish version ofthe perceived stress scale (PSS-14): Psychometric studyin an HIV+ sample]. **Ansiedad y estrés**, 7(2–3), 195–201, 2001.
- CRAIG D.H CHAPMAN S.K DAFF S. Calmodulin activates electron transfer through neuronal nitric oxide synthase reductase domain by releasing na NADPH dependent conformational lock. **J. Biol. Chem.**, v.277, n. 37, p. 33987-33994, 2002.
- CHEN I.T Jimbow K. Comparison in expression of tyrosinase, TRP-1, and c-Kit between normal human melanocytes and "vitiligo"melanocytes. **Pigment cell Research**; v. 24 1994 (suppl 3).
- CHEONG K.A, Kim N.H Noh M. Lee A.Y. Três novos polimorfismos de nucleotídeo único identificados por um estudo de associação do genoma em pacientes coreanos com vitiligo. **J. Coreano Med. Sci.** 28 775-779, 2013.
- COHEN S. Karmack, T. Mermelsteinm R. A global measure of perceived stress. **Journal of Health and Social Behavior**, 24(4), 385-396, 1983.
- COHEN S. Williamsom G.M. Perceived stress in a probability sample of United States. In S. Spacapan & S. Oskamp (Eds.), **The Social Psychology of Health: Claremont Symposium on applied social psychology**. Newbury Park, C. Sage, p. 31-64, 1988.
- CHRISTIE J.D. The interleukin-6 gene and critical illness: Is inflammatory gene variation the key to personalized medicine in the intensive care unit? **Crit Care Med** v.36 (5), p. 1647-1648, 2008.

DAFNI C. Drakoulis N. Landtn O. Panidi D. Reczko M. Cokkinos D.V. Association of the eNOS E298D polymorphism and the risk of myocardial infarction in the Greek population. Greece, **BMC Medical Genetics**, v.11, p.133, 2010.

DE MARCO K.C. Braga G.U Barbosa F. Jr. Determination of the Effects of eNOS Gene Polymorphisms (T-786C and Glu298Asp) on Nitric Oxide Levels in a Methylmercury-Exposed Population. **J Toxicol Environ Saúde**. 74 (20): 1323-1333, 2011. CHEN I.T Jimbow K. Comparison in expression of tyrosinase, TRP-1, and c-Kit between normal human melanocytes and "vitiligo" melanocytes. **Pigment cell Research**; 24 (suppl 3), 1994.

DOLATSHAHI O.M Ghazi P. Feizy V. Life quality assessment among patients with vitiligo: comparison of married and single patients in Iran. Indian. **J.DermatolVenereol Leprol**; v.74, n.6, p. 695-700, 2008.

DUDZINSKI D.M Igarashi, J. Greif D. Michel, T. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**. V.46,p. 235-76, 2006.

DUSSE L. M..S. Vieira L. M Carvalho M.G. Nitric oxide revision. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

ESKIN M. Parr D. **Introducing a Swedish version of an instrument measuring mental stress**. Department of Psychology, University of Stockholm, p. 9, 1996.

EZZEDINE K. Lim H.W Suzuki T. Katayama I, Hamzavi I. Lan, C.C Revised classification/ nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. **Pigment Cell Melanoma Res**, v.25, p.1-13. 2012.

FINLAY A.Y Khan G.K. Dermatology Life Quality Index (DLQI) – a simple practical measure for routine clinical use. **Clin Exp Dermatol**. Cardiff, Ucrânia. v.19, n. 3. P.210-6. 1994.

GANZ P. Vita J. Testing Endothelial Vasomotor Function: Nitric Oxide, a Multipotent Molecule. **Circulation** v.108, p.2049-2053,2003.

HAHN H. Melfi C. Chuan, T. Lewis C. Gonin R. Hanna M. Framer E. Use of the Dermatology Life Quality Index (DLQI) in a midwestern US urban clinic. **Journal of American Academic Dermatology**, 45 (1), 44-48, 2001.

HINGORANI A.D Liang C.F Fatibene J. Lyon A. Monteith S. Parsons A. Haydock S. Hooper R.V Stephens N.G O'shaughnessy K.M. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298 Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. **Circulation**, v.100, p.1515–1520,1999.

HONGBO Y. Thomas C.L Harrison M.A Salek M.S, Finlay A.Y. Translating the Science of quality of life into practice: What do dermatology life quality index scores means? **J. Invest. Dermatology**, v.125, p. 659-664, 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 21 out. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/> Acesso em: 21/10/2016.

JIN Y. Birlea A.S. Fain PR Gowan K. Riccardi S.L Holanda P.J et al. Variante do TYR e loci autoimunidade susceptibilidade no vitiligo generalizado. **N. Engl. J. Med**. v.362, 1686-1697, 2010.

JIN Y. Birlea S.A Fain P.R Ferrara T.M Ben S. Riccardi S.L et al. Association in whole genome analyzes to identify 13 new loci susceptibility to generalized vitiligo. **Nat. Genet**. v. 44, p.676-680, 2012.

JOBANPUTRA R. Bachmann M. The effect of skin diseases on quality of life in patients from different social and ethnic groups in Cape Town, South Africa. **International Journal of**

Dermatology, 39, 826-831, 2000. KEMP E.H Waterman E.A Weetman A.P. Autoimmune Aspects of Vitiligo. **Autoimmunity**, v.34 (1): 65-77, 2001.

PATRIAS K. Wendling D. **Citing Medicine: The NLM Style Guide for Authors**. 2nd edition National Library of Medicine, EUA, 2007.

MARTINS M.G Arruda L. Mugnaini A.S.B. Validation of life quality questionnaires for psoriasis patients. **An. Bras. Dermatol**, Rio de Janeiro, 79(5):521-535, set/out. 2004.

NATH S.K Manjumder P.P Nordlund J.J. Genetic epidemiology of vitiligo: multilocus recessivity cross-validated. **Am J Hum Genet**, v.55, p. 981-990, 1994.

National Center of Biotechnology Information, **NCBI**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> Acesso em: 05 de agos, 2016.

NOGUEIRA L.S.C Zancanaro P.C.Q. Azambuja R.D. Vitiligo e emoções. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.84, p.41-45, 2009.

NUSSBAUM, R. L. et al. Variação Genética em Indivíduos: Mutações e Polimorfismo. In: _____. **Genética Médica: Thompson & Thompson**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 47-62, 2002.

PETRI M. Epidemiology of systemic lúpus eritematosus; **Best Pract. Res. Clin. Rheumatol**, v.16 (5): P. 847-58. 2002.

ONGENAE K Van Geel N De Schepper S, Naeyaert J.M. Effect of vitiligo on self-reported health-related quality of life. **Br J Dermatol**. v.152:1165-72, 2005.

PARSAD D Pandhi R Dogra S Kanwar A.J Kumar B. Dermatology Life Quality Index score in vitiligo and its impact in the treatment outcome. **British Journal of Dermatology**, v.148, p.363-384, 2003.

QUAN C Ren Y Q Xiang L. H Sun L D. Xu A E Gao X.H Et al. Estudo de associação genômica ampla para o vitiligo identifica susceptibilidade loci em 6q27 eo MHC. **Nat.Genet**. v.42 614-618, 2010.

RAJAGOPALAN R Sheretz E.F **Anderson R.T**. Care management of skin disease: life quality and economic impact. New York, NY: Merceel Dekker, 1999.

REILLY M Lavin P Kahler K Pariser D. Validation of the Dermatology Life Quality Index and the work productivity and activity impairment – chronic hand dermatitis questionnaire in chronic hand dermatitis. **Journal of American Academic of Dermatology**, 48, 128-130, 2003.

REEDY M.V. D.M. Parichy C.A. Erickson K.A. Mason and S.K. Frost-Mason. Regulation of melanoblast migration and differentiation. In: **The Pigmentary System. Physiology and Pathophysiology**, J. J Nordlund R..E. Boissy, V. J Hearing R..A King and J.P. Ortonne (eds). Oxford: Oxford University Press, p. 75– 95, 1988.

REIS R.S Hino A.A.F Rodrigues Añes C.R. Perceived Stress Scale - Reliability and Validity Study in Brazil. **Journal of Health Psychology** London, Vol 15(1) 107–114, 2010.

REMOR, E. Psychometric properties of a European Spanish version of the Perceived Stress Scale (PSS). **Spanish Journal of Psychology**, v.9 (1), p.86-93, 2006.

ROSA E.C. Natali M.R.M. Vitiligo: um problema que não pode passar em branco. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.2, p.119-126, 2009.

SABATINE M Seidman J Seidman C. Cardiovascular Genomics, **Circulation**, v.113, p. 450-455, 2006.

SAMBROOK J Fritsch E.F *et al.* **Molecular Cloning**, a Laboratory Manual, 2nd Ed, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

- SHEN C Gao J Sheng Y^{Dou} J Zhou F Zheng X Ko R Tang X Zhu C^{Yin} X Sun L Cui Y Zhang X. Genetic Susceptibility to Vitiligo: GWAS Approaches for Identifying Vitiligo Susceptibility Genes and Loci. **Frontiers in Genetics**, V. 7 p. 1-12, 2016.
- SIASOS G D Tousoulis Antoniadis S Watanabe AC. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: An alternative treatment for premature atherosclerosis? **International Journal of Cardiology** v.116 (3), p. 300-308, 2006.
- SILVA P.S. Lacchini R Gomes V A Tanus-Santos J. Implicações farmacogenéticas de polimorfismos da eNOS para drogas de ação cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.** vol.96 no.2 São Paulo Feb. 2011.
- STEINER D Bedin V Moraes M B Villas R.T Steiner T. Vitiligo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.79(3) p.335-351, 2004.
- SZCZURKO O. Boon H.S. A systematic review of natural health product treatment for vitiligo. **BMC Dermatology**, v.8, p.2-14, 2008.
- TANG X.F Zhang Z Hu D.Y Xu A.E Zhou H.S Sun L.D et al. Associação analisa identificar três susceptibilidades Loci de vitiligo na população chinesa Han. **J. Investir. Dermatol.** 133 403-410, 2013.
- TANIOKA M. Yamamoto Y Kato M Miyachi Y Camouflage for patients with vitiligo vulgaris improved their quality of life. **J Cosmet Dermatol.**v.9, n.1, p. 72–75, 2015.
- FARIA A.R Tarle R.G Dellatorre G. Mira M.T Castro C.C.S Vitiligo - Part 2 - classification, histopathology and treatment* **A. Bras. Dermatol.** v.89 (5): 784-90, 2014.
- TARLÉ RG Nascimento L.M Mira M.T Castro C.C. Vitiligo--part. 1. **An Bras Dermatol.**v.89, n.3, p.461-70, 2015.
- TANUS-SANTOS J.E. Desai M. Flockart D. A. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. **Pharmacogenetics.** v.11, n.8, p.719-25, 2001.
- TIEDRA A Mercadal J Badía X Mascaró J Herdman M. Lozano R. Adaptación transcultural al español del cuestionario Dermatology Quality Index (DLQI): El Índice de Calidad de Vida em Dermatología. **Actas Dermo- Sifiliográficas**, v.89, 692-700, 1998.
- THOITS, P. A. Stress and Health: Major findings and policy implications. **Journal of Health and Social Behavior**, v.51(1), p.41-53, 2010.
- THOMPSON A.R. Clarke S.A. Newell R.J. Gawkrödger D.J. The Appearance Research Collaboration (ARC). Vitiligo linked to stigmatization in British South Asian women: a qualitative study of the experiences of living with vitiligo. **British Journal of Dermatology**, v.163, p.481–486, 2010.
- WHEELER D.S Wong H.R. The impact of molecular biology on the practice of pediatric critical care medicine. **Pediatr Crit Care Med.** v. 2 (4) p. 299-310, 2001.
- WORTHINGTON J. Investigative the genetic basic of susceptibility to rheumatoid arthritis. **Journal of Autoimmun.** v. 25 p.16-20, 2005.
- WHOQOL Group. Measuring quality of life: the development of the World Health Organization Quality of Life Instrument (WHOQOL). Geneva, **Social Science & Medicine**, v.41, p. 1403-14409, 2000.

ZACHARIAE R. Zachariae C Ibsen H Mortensen J Wulf H Dermatology Life Quality Index: data from Danish inpatients and outpatients. **Acta Dermatology Veneorologist**, v.80, 272-276, 2000.

ZOGBI, H., Müller, M. C., Protas, J. S., Kieling, C. M., & Driemeier, F. M. **Avaliação de qualidade de vida em pacientes com dermatoses: Estudo de Adaptação e Validação do Dermatology Life Quality Index (DLQI) para uma amostra Sul- Brasileira.** 667 f. Dissertação (Mestrado em Psicologia Clínica da Pontifícia) Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2004.

Anexo I



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo da Associação entre polimorfismo no gene de óxido nítrico sintase e vitiligo em uma população de Jataí Goiás

Pesquisador: Kenia Alves Pereira Lacerda

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 3

CAAE: 38488314.0.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.012.653

Data da Relatoria: 06/04/2015

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: Estudo da Associação entre polimorfismo no gene de óxido nítrico sintase e vitiligo em uma população de Jataí Goiás. **Pesquisador:** Kenia Alves Pereira Lacerda

Trata-se de uma pesquisa de caso-controle de base hospitalar realizada no Centro médico Serafim de Carvalho de Jataí Goiás cujo desfecho primário é a verificação do polimorfismo da enzima óxido nítrico sintase induzível em portadores de vitiligo. Serão avaliados 80 pacientes com diagnóstico de vitiligo (grupo casos) em comparação com o grupo de controle (100 pacientes) provenientes dos ambulatórios do hospital que não possuem vitiligo. O grupo controle será emparelhado por idade e sexo— dois anos a mais ou dois anos a menos, porque frequências genotípicas podem variar entre os grupos étnicos. Os participantes desse estudo serão recrutados através dos prontuários do pacientes com vitiligo presentes no Centro Médico de Saúde Dr. Serafim de Carvalho em Jataí. Este recrutamento será realizado por médico clínico dermatologista. Os voluntários responderão um questionário que apresentará características da amostra como idade, sexo, estado civil e nível de escolaridade. E será aplicado outro questionário Dermatology Life Quality Index (DLQI-BRA), para mensurar a qualidade de vida dos paciente com vitiligo. O (DLQI) é um instrumento de auto-avaliação, ele é autoexplicativo. Serão coletados 10 ml de sangue

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.012.653

periférico, em tubos cônicos graduados de 12ml dos participantes, os procedimentos da coleta de amostras serão realizados por uma biomédica no ambulatório do Hospital Serafim de Carvalho de Jataí Goiás. Em seguida as amostras serão levadas para o laboratório de bioquímica celular da UFG em Goiânia para a realização das análises bioquímicas e genotipagem.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Verificar o polimorfismo da enzima óxido nítrico sintase induzível em portadores de vitiligo.

Objetivo Secundário:

Descrever a variabilidade genética dos polimorfismos citados acima na população de pacientes e na população de controles representativos de Jataí Goiás. Determinar as frequências alélicas de cada polimorfismo em ambas as populações. Avaliar a influência dos alelos e genótipos dos genes candidatos na idade de início nos pacientes com vitiligo. Avaliar a influência do sexo, idade, nível de escolaridade e a qualidade de vida em pacientes com vitiligo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A única etapa que poderia oferecer riscos aos voluntários da pesquisa seria durante a coleta das amostras de sangue, portanto, a coleta do material biológico será realizada por um profissional experiente que não oferece risco ao voluntário.

Benefícios:

Elucidar a etiopatologia do vitiligo, bem como sua evolução clínica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Na última vez em que este projeto foi avaliado por este comitê, já era analisado um atendimento de pendências. Desta vez solicitava-se: "faz-se necessária a afirmativa, na forma de declaração da pesquisadora, de que o período de recrutamento e coleta de dados ainda não foi iniciado, acompanhado da atualização e adequação do cronograma, tanto nas informações básicas como no arquivo "projeto detalhado".O início da coleta de dados só deve ocorrer após aprovação do projeto pelo CEP."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresenta uma nova versão do projeto onde se observa um cronograma, desta vez melhor detalhado. Desta observação, pode-se concluir que a pesquisadora ainda não iniciou a pesquisa, uma vez que no referido cronograma a etapa de recrutamento está associada aos meses de abril e maio/2015.

Endereço: Prédio da Retoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambala **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.012.653

Recomendações:

A pesquisadora deve atentar para as solicitações do CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Embora a pesquisadora não tenha apresentado a declaração solicitada, fica evidenciado que a pesquisa não foi iniciada. Desta forma, SMJ deste comitê sugiro a aprovação deste projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que a Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que a pesquisadora responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS nº. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para janeiro de 2016.

GOIANIA, 07 de Abril de 2015

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambala **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com



Anexo II

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

(Em acordo com as Normas Éticas para pesquisa com Seres Humano [Resolução 466/2012] do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde [CNS-MS])

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa, que tem como objetivo esclarecer o processo que promove a despigmentação em áreas da pele que ocorre no vitiligo. Meu nome é Kênia Alves Pereira Lacerda, sou a pesquisadora responsável por esta pesquisa e minha área de atuação é Ciências Biológicas. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato comigo pelos telefones (64) 9241-8098 ou (64) 3636-2355. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, no telefone: (62) 3251- 1215 ou no endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás.

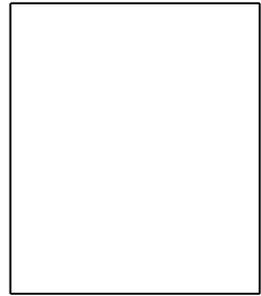
INFORMAÇÕES IMPORTANTES QUE VOCÊ PRECISA SABER SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: Estudo da Associação entre polimorfismo no gene de óxido nítrico sintase e vitiligo em uma população de Jataí Goiás.

Aplicação do Termo: O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será aplicado pela pesquisadora responsável Kênia Alves Pereira Lacerda.

Cerca de 40 a 50 milhões de pessoas em todo o mundo têm vitiligo e, embora sua forma primária não seja uma ameaça à vida, os efeitos estéticos e psicológicos da doença demandam para uma terapia eficaz, que depende de um melhor entendimento da sua patogênese (refere-se ao modo como os agentes agredem o nosso organismo e os sistemas naturais de defesa reagem, surgindo mesmo assim, lesões e disfunções das células e tecidos agredidos, produzindo-se a doença). Estudos genéticos destacam primariamente genes envolvidos na resposta imune celular e humoral. Neste cenário, pode-se propor estudar genes candidatos, localizados em regiões previamente descritas e/ou envolvidos nesses processos. Considerando o importante papel que desempenha a substância eNOS (enzima óxido nítrico sintase endotelial) na produção de NO (óxido nítrico), a pesquisa busca analisar a hipótese de que a variação funcional no gene eNOS pode estar associada com o risco de vitiligo de uma população de Jataí Goiás.

Detalhamento do Procedimento: Inicialmente, você responderá um questionário com características dos participantes da pesquisa, como idade, sexo, estado civil e nível de escolaridade. Logo após, será aplicado um teste em forma de questionário para avaliar a qualidade de vida. Em outro momento, você será atendido



Polegar

direito

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu,

RG _____ CPF _____, abaixo

assinado, concordo em participar do estudo, da associação entre polimorfismo no gene de óxido nítrico sintase e vitiligo em uma população de Jataí Goiás sob a responsabilidade de Kênia Alves Pereira Lacerda, como sujeito voluntário. Fui devidamente informado (a) e esclarecido pela pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Estou ciente também dos objetivos, dos procedimentos aos quais serei submetido, da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresse minha concordância de espontânea vontade em participar desta pesquisa.

Assinatura do Voluntário

Testemunha



Polegar direito

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação nesta pesquisa.

.....
Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE

Dados dos pesquisadores:

Pesquisadora responsável pela

pesquisa: Kênia Alves Pereira

Lacerda

Endereço: Rua Jerônimo Otoni n. 121, setor Granjeiro, Jataí Goiás. Telefone: (64) 3636-2355 ou (64) 9241-8098. Email: kenialacerdaalves@gmail.com

Professora

orientadora:

Lídia Andreu

Guillo

Endereço: Câmpus samambaia II- Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás.

Telefone: (62) 3521-1495 ou (62) 9976-1878. Email: lidia.guillo@gmail.com

Colaboradores:

Médico Dermatologista: Dr. Michael Carvalho Santana

Endereço: Rua T-58, n 315, Setor Bueno – Goiânia Goiás. Telefone: (62) 3236-9300. Email: www.viamedica-go.com.br

Farmacêutica- Bioquímica: Arlete Ferreira dos Reis

Endereço: Laboratório Santa Clara – Diagnósticos e Análises Clínicas - Rua. Castro Alves, 766 – Setor Central, Jataí Goiás, Tel.(64) 3636-6523. Email: lab_santaclara@br.turbo.com.br

Anexo V

Outros anexos específicos de cada pesquisa

Características Gerais da Amostra

Qual sua idade? _____ anos

Sexo

- feminino
- masculino

Estado Civil

- Solteiro(a)
- Casado(a) ou em União estável
- Separado(a)
- viúvo(a)

Nível de escolaridade

- não alfabetizado(a)
- I Grau incompleto
- I Grau completo
- ensino médio incompleto
- ensino médio completo
- superior incompleto
- superior completo

Tempo com a doença vitiligo

- 0 a 5 anos
- 5 a 10 anos
- 10 a 15 anos
- 15 a 20 anos
- mais de 20 anos

Já fez algum tipo de tratamento para o vitiligo?

- sim
- não

Se sim, cite o qual
(is):.....

Tipo de vitiligo: () vitiligo não segmentar () vitiligo segmentar

Localização do vitiligo: () localizado () generalizado

Padrão de envolvimento: () área exposta () área não exposta

Cor da pele:

Tipo	Descrição da pele
I	Branca, sempre queima, nunca bronzeia, muito sensível ao sol.
II	Branca, sempre queima, bronzeia muito pouco, sensível ao sol.
III	Morena-clara, queima (moderadamente), bronzeia (moderadamente), sensibilidade normal ao sol.
IV	Morena- moderada, queima pouco, e sempre bronzeia, sensibilidade normal ao sol.
V	Morena-escura, queima raramente, sempre bronzeia, pouco sensível ao sol.
VI	Negra, nunca queima, totalmente pigmentada, insensível ao sol

Fitzpatrick, (1976).

Anexo VI

Índice de Qualidade de Vida em Dermatologia – DLQI-BRA

Este questionário visa medir o quanto o problema de pele que você tem afetou sua vida durante a semana que passou. Escolha apenas uma resposta para cada pergunta e marque um X sobre a alternativa correspondente.

1. O quanto sua pele foi afetada durante a semana que passou por causa de coceira, inflamação, dor ou queimação?

realmente muito | bastante | um pouco | nada

2. Quanto constrangimento ou outro tipo de limitação foi causado por sua pele durante a semana que passou?

realmente muito | bastante | um pouco | nada

3. O quanto sua pele interferiu nas suas atividades de compras ou passeios, em casa ou locais públicos, durante a semana que passou?

realmente muito | bastante | um pouco | nada

4. Até que ponto a sua pele interferiu na semana que passou com relação às roupas que você normalmente usa?

realmente muito | bastante | um pouco | nada | sem relevância

5. O quanto sua pele afetou qualquer uma das suas atividades sociais ou de lazer na semana que passou?

realmente muito | bastante | um pouco | nada | sem relevância

6. Quão difícil foi para você praticar esportes durante a semana que passou?

realmente muito | bastante | um pouco | nada | sem relevância

7. Sua pele impediu que você fosse trabalhar ou estudar durante a semana que passou?

Sim () | não | sem relevância

Em caso negativo, sua pele já foi problema para você no trabalho ou na vida escolar?

bastante | um pouco | nada

8. Quão problemática se tornou sua relação com o(a) parceiro(a), amigos próximos ou parentes, por causa de sua pele?

realmente muito | bastante | um pouco | nada | sem relevância

9. Até que ponto sua pele criou dificuldades na sua vida sexual na semana que passou?

realmente muito | bastante | um pouco | nada | sem relevância

10. Até que ponto seu tratamento dermatológico criou problemas para você na semana que passou?

realmente muito | bastante | um pouco | nada | sem relevância

Por favor, revise suas respostas. Obrigada.

Direitos reservados © Dermatology Life Quality Index. A. Y. Finlay, G. K. Khan, Abril 1992. Este não pode ser copiado sem a permissão dos autores. Versão Brasileira, 2004, Grupo de Pesquisa Psicologia da Saúde, PUCRS, H. Zogbi, M. C. Müller.

Anexo VII

Escala de Estresse Percebido (PSS-10)

As questões nesta escala perguntam a respeito de seus sentimentos e pensamentos durante os últimos 30 dias (último mês).

Em cada questão indique a frequência com que você sentiu ou pensou a respeito da situação.

0 = Nunca 1 = Quase nunca 2 = Às vezes 3 = Pouco frequente 4 = Muito frequente

1. Com que frequência você ficou aborrecido por causa de algo que aconteceu inesperadamente? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

2. Com que frequência você sentiu que foi incapaz de controlar coisas importantes na sua vida? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

3. Com que frequência você esteve nervoso ou estressado? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

4. Com que frequência você esteve confiante em sua capacidade de lidar com seus problemas pessoais? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

5. Com que frequência você sentiu que as coisas aconteceram da maneira que você esperava? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

6. Com que frequência você achou que não conseguiria lidar com todas as coisas que tinha por fazer? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

7. Com que frequência você foi capaz de controlar irritações? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

8. Com que frequência você sentiu que todos os aspectos de sua vida estavam sob controle? (Considere os últimos 30 dias).....
..... **0 1 2 3 4**

9. Com que frequência você esteve bravo por causa de coisas que estiveram fora de seu controle? (Considere os últimos 30 dias)
..... **0 1 2 3 4**

10. Com que frequência você sentiu que os problemas acumularam tanto que você não conseguiria resolvê los? (Considere os últimos 30 dias)
..... **0 1 2 3 4**

Referência

The PSS Scale is reprinted with permission of the American Sociological Association, from Cohen, S., Kamarck, T., and Mermelstein, R. (1983). A global measure of perceived stress. *Journal of Health and Social Behavior*, 24, 386-396.
Cohen, S. and Williamson, G. Perceived Stress in a Probability Sample of the United States. Spacapan, S. and Oskamp, S. (Eds.) *The Social Psychology of Health*. Newbury Park, CA: Sage, 1988.