

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Bárbara Cyrino Martins

**DIABETES AUTOIMUNE LATENTE DO ADULTO: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA SOBRE SUA FISIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO**

SÃO PAULO

2018

Bárbara Cyrino Martins – RA: SPGR002968

**DIABETES AUTOIMUNE LATENTE DO ADULTO: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA SOBRE SUA FISIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Prof^a Dra. Sandra Castro Poppe, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel e Licenciatura em Biomedicina.

São Paulo

2018

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Martins, Bárbara Cyrino

Diabetes autoimune latente do adulto: uma revisão bibliográfica sobre a fisiopatogenia e diagnóstico / Bárbara Cyrino Martins. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2018.

74 p.

Orientação de Sandra Castro Poppe

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2018.

1. Autoanticorpos 2. Diabetes autoimune latente em adultos – fisiopatologia
3. Diagnóstico 4. Insulina 5. Proteínas sanguíneas I. Poppe, Sandra Castro II.
Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.462

Bárbara Cyrino Martins

**DIABETES AUTOIMUNE LATENTE DO ADULTO: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA SOBRE SUA FISIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO**

São Paulo, Novembro de 2018

Professora Orientadora Sandra Castro Poppe

Professor Examinador Eduardo Fernandes Bondan

*Dedico este trabalho ao meu avô
Camilo Martins, que hoje não está mais
conosco, mas sei que está orgulhoso em
me ver formando. Sua importância na
minha vida foi fundamental na escolha
do meu tema, e hoje faço da minha
condição, inspiração para o título deste
trabalho.*

Gostaria de agradecer ao apoio fundamental da minha família, desde o momento da escolha do meu curso, durante todos esses anos me ajudando em todos os aspectos e me encorajando a seguir em frente, principalmente nos momentos de dificuldades, tanto acadêmicas como pessoais. Agradeço aos meus colegas de sala pelas experiências trocadas e amizades criadas, pois acredito que suas influências além de me engrandecer como ser humano, me fizeram profissional. A confecção deste trabalho não seria a mesma se não tivéssemos aprendido uns com os outros. Agradeço a todos os docentes que estiveram na frente da sala de aula, nos ensinando a ser profissionais diferenciados e pessoas melhores a cada semestre, sempre aspirando carinho e dedicação. Agradeço especialmente à minha orientadora, Sandra Castro Poppe, que me aceitou e guiou na condução deste projeto de maneira doce e didática. Agradeço, finalmente, a Deus por me permitir chegar até aqui com saúde para concluir mais um ciclo da minha vida.

MARTINS, Bárbara Cyrino. **Diabetes Autoimune Latente Do Adulto: Uma Revisão Bibliográfica Sobre Sua Fisiopatogenia E Diagnóstico**. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel- Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2018.

A prevalência do Diabetes Autoimune Latente do Adulto (LADA) tem sido estimada em diversas publicações, variando em virtude da população estudada (país), dos critérios usados, sobretudo a idade e o tempo do diagnóstico e dos anticorpos avaliados. A apresentação clínica inicial diferencia as duas formas de diabetes associadas aos autoanticorpos no adulto: LADA e DM1. O primeiro se caracteriza por ausência de cetoacidose (CAD) ou hiperglicemia acentuada sintomática nos primeiros 6 a 12 meses, não havendo requerimento de insulina nesse período, o que o assemelha ao DM2 clássico; enquanto o DM1 é definido na presença de sintomas típicos de hiperglicemia (poliúria, polidipsia e/ou perda de peso), cetonúria ou CAD, com necessidade de insulina no diagnóstico ou imediatamente após. Esses sinais clínicos levam a um diagnóstico errôneo do paciente tipo LADA no estado inicial da doença ao diagnóstico de DM2. Sendo assim, o LADA compartilha características do DM1 e do DM2 clássicos, com heterogeneidade genotípica, fenotípica e quanto à perda da função das células-beta. A tipificação pode ser melhor providenciada com base nos títulos de autoanticorpos antidescarboxilase do ácido glutâmico (GADA ou GAD). Pacientes com altos títulos desses anticorpos apresentam fenótipo mais próximo do DM1, progridem mais precocemente para necessidade de insulina, e podem ser beneficiados, retardando a falência das células-beta, com a insulinização precoce e evitando-se o uso de sulfoniluréias. Em oposição, pacientes com baixos títulos de GADA se assemelham mais aos DM2 (GADA negativos) e aparentemente não teriam prejuízos em serem conduzidos da mesma forma que estes. Ainda assim, pacientes que possuem LADA podem apresentar negatividade para todos os autoanticorpos testados (ICA, IAA, GADA, IA2), inclusive para GADA. Relatos ainda garantem que a especificidade desse anticorpo para este tipo de diabetes não é tão forte quanto para o DM1. Juntando esse indicativo e o diagnóstico clínico primário equivocado, faz-se necessário o aprofundamento em estudos que possam diferenciar LADA, como a detecção de proteínas plasmáticas, novos anticorpos ou haplótipos, entre outros, que possam tornar o diagnóstico mais preciso, e, portanto, evitar os possíveis riscos que a complicação dessa doença pode trazer ao paciente.

Palavras – chave: Autoanticorpos. Diabetes autoimune latente em adultos – fisiopatologia. Diagnóstico. Insulina. Proteínas.

MARTINS, Bárbara Cyrino. **Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Bibliographic Review of Its Pathophysiology and Diagnosis**. 2018. Graduation work (Bachelor-Biomedicine) - Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2018.

The prevalence of Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) has been estimated in several publications, varying due to the population studied (country), the criteria used, especially the age and time of diagnosis and the antibodies evaluated. The initial clinical presentation differentiates the two forms of diabetes associated with autoantibodies in adults: LADA and DM1. The former is characterized by absence of ketoacidosis (CAD) or marked symptomatic hyperglycemia in the first 6 to 12 months, with no insulin requirement in this period, which resembles classical DM2; while DM1 is defined by the presence of typical symptoms of hyperglycemia (polyuria, polydipsia and / or weight loss), ketonuria or CAD, requiring insulin therapy at diagnosis or immediately after. These clinical signs lead to an erroneous diagnosis of the LADA-type patient, in the initial state of the disease, to the diagnosis of T2DM. Thus, LADA shares classic DM1 and DM2 characteristics, with genotypic, phenotypic heterogeneity and loss of beta cell function. The typification can best be provided on the basis of the anti-decarboxylase autoantibodies of glutamic acid (GADA or GAD) titles. Patients with high titers of these antibodies present a phenotype closer to DM1, progressing earlier for insulin need, and may benefit by delaying beta-cell failure with early insulinization and avoiding the use of sulfonylureas. In contrast, patients with low GADA titers more closely resemble DMARDs (GADA negative) and apparently would not be harmed in the same way as these. Nevertheless, patients with LADA may present negativity for all autoantibodies tested (ICA, IAA, GADA, IA2), including for GADA. Reports still warrant that the specificity of this antibody for this type of diabetes is not as strong as for DM1. Combining this indicative and the mistaken primary clinical diagnosis, it is necessary to deepen in studies that can differentiate LADA, such as the detection of plasma proteins, new antibodies or haplotypes, among others, that can make the diagnosis more precise, and therefore avoid the possible risks of diseases that the complication of this disease can bring to the patient.

Keywords: Autoantibodies. Diabetes latent autoimmune in adults - pathophysiology. Diagnosis. Insulin. Proteins.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Secreção de insulina pelas células beta pancreáticas.....	17
Quadro 1: Classificação etiológica do diabetes mellitus.....	18
Figura 2: Rastreamento do Diabetes gestacional através da medida da glicose plasmática em jejum.....	22
Figura 3: A ilhota de Langerhans e sua composição celular.....	28
Figura 4: Esquematização do receptor de insulina e seus efeitos dentro das células.....	30
Figura 5: Mecanismos básicos de estímulos pela glicose da secreção de insulina pelas células beta do pâncreas.....	31
Figura 6: Mecanismos do desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes.....	35
Quadro 2: Complicações Clínicas em pacientes Diabéticos Tipo 1, Tipo 2 e LADA.....	36
Figura 7: Modelo do mecanismo de sinalização do receptor IRS-1.....	38
Esquema 1: Efeitos da deficiência de insulina.....	40
Esquema 2: Comparação dos tipos de diabetes.....	43
Quadro 3: Diagnóstico do diabetes mellitus e alterações da tolerância à glicose de acordo com valores de glicose plasmática.....	45
Figura 8: Valores de glicemia em jejum, teste de tolerância a glicose de 2 horas e hemoglobina glicada no diagnóstico do diabetes.....	46
Figura 9: Diagnóstico do tipo de diabetes mellitus em crianças e adolescentes.....	47
Figura 10: Valores de referência de HOMA-IR em relação ao IMC.....	49
Quadro 4: A titulação do anticorpo GADA positivos em diabéticos sem requerimento de insulina inicialmente.....	51
Quadro 5: Prevalência de GAD positivo, por faixa etária, em adultos diabéticos.....	52
Figura 11: Resultado de Western Blot na expressão relativa de GPLD1 analisadas nos quatro coortes: LADA, DM1, DM2 e paciente normal.....	55
Figura 12: Resultado de ELISA na expressão relativa de GPLD1 analisadas nos quatro coortes: LADA, DM1, DM2 e paciente normal.....	56
Figura 13: Análise das histonas H3 e H4 acetiladas no grupo de pacientes com LADA e grupo controle, onde foram comparados entre o número de pessoas participantes do estudo, a porcentagem da HbA1c, pacientes sem complicações que a alta HbA1c traz e com complicações, e as titulações baixa e alta do autoanticorpo GADA em pacientes com LADA.....	60

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO	14
3	MATERIAIS E MÉTODOS	15
4	DESENVOLVIMENTO.....	16
4.1	O Que é Diabetes	16
4.1.2	Definição	16
4.2	Breve Introdução: Os Tipos de Diabetes	19
4.2.1	Diabetes Mellitus insulino-dependente ou DM1	19
4.2.2	Diabetes Mellitus insulino-independente ou DM2.	20
4.2.3	MODY	21
4.2.4	Diabetes de Origem Mitocondrial	21
4.2.5	Diabetes Gestacional.....	22
5	LADA OU DIABETES AUTOIMUNE LATENTE DO ADULTO.....	24
5.1	Epidemiologia	26
6	FISIOPATOGENIA	28
6.1.	ESTADO NORMAL	28
6.2	No Diabetes:	32
6.2.1	Deficiência de Insulina: Músculo	32
6.2.2	Deficiência de Insulina: Fígado	32
6.2.3	Deficiência de Insulina: Lipólise	35
7	DIAGNÓSTICO.....	41
7.1	Características Clínicas	41
7.2	Exames Laboratoriais	43
7.2.1	Teste de glicemia em jejum e Teste Oral de tolerância a glicose – TOTG.....	43
7.2.2	Hemoglobina Glicada	45
7.2.3	Peptídeo C	46
7.2.4	HOMA-IR	48
8	AUTOANTICORPOS.....	50
9	ESTUDOS SOBRE LADA	53
9.1	Estudos Envolvendo Proteínas Plasmáticas	53
9.1.1	A busca por um perfil metabólico que diferencie LADA.....	53
9.1.2	A possível origem dos autoanticorpos e outras proteínas.	54
9.2	Estudos Envolvendo Células Do Sistema Imunológico	58
9.2.1	Células TCD4+ e a acetilação de histonas	58
9.2.2	Um estudo mais aprofundado nas populações de células TCD4+ e TCD8+.....	60

9.2.3 Haplótipos e genótipos discrepantes entre LADA e DM1	62
9.2.4 Perfis de marcadores inflamatórios de baixo grau na diferenciação entre DM1 e LADA	64
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
REFERÊNCIAS.....	69

1 INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus é uma doença crônica, caracterizada pela elevação da glicose no sangue e pode ocorrer devido a defeitos na secreção de insulina ou redução na ação da mesma. A insulina, por sua vez, é o hormônio hipoglicemiante, que é produzido no pâncreas, pelas chamadas células beta das Ilhotas de Langerhans e tem como função controlar a concentração de glicose presente no sangue (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Esse hormônio é responsável por levar a glicose obtida por meio dos alimentos, para dentro das células para que elas sejam capazes de desempenhar suas funções vitais, como a respiração celular (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017). A falta da insulina ou um defeito na sua ação resulta, portanto, em acúmulo de glicose no sangue, o que é chamado de hiperglicemia (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007).

O diabetes é classificado em grupos, sendo o Diabetes Mellitus tipo 1 e o Diabetes Mellitus tipo 2 os mais conhecidos. Os demais tipos ou subgrupos são mais raros, e conseqüentemente, menos frequente e menos populares. No entanto, há um tipo que se encaixa entre os dois acima, chamado de Diabetes Autoimune Latente do Adulto, também conhecido como LADA (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

O termo diabetes autoimune latente do adulto (LADA) foi introduzido por Tuomi e Zimmet para definir pacientes diabéticos adultos que não requeriam insulina inicialmente, mas que apresentavam autoanticorpos contra as células beta e progressão mais rápida para insulino dependência (CAL SOLARI *et al.*, 2008). A idade do diagnóstico flutua entre 25 a 65 anos, sendo a idade de 35 anos classicamente considerada o marco de definição oficial do paciente que possui LADA. Os critérios de definição variam amplamente não apenas na idade, mas também na titulação de autoanticorpos encontrados e o tempo de diagnóstico do paciente (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

O diagnóstico do diabetes inicia-se a partir dos sintomas físicos da doença, a idade do paciente, valores de índice de massa corporal (IMC), os hábitos alimentares,

e para confirmar, os exames laboratoriais. Alguns dos sintomas que o diabético pode apresentar que leve à suspeita do diagnóstico são: poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e visão turva ou por complicações agudas que podem levar a risco de vida: a cetoacidose diabética e a síndrome hiperosmolar hiperglicêmica não cetótica (GROSS *et al.*, 2002).

Entretanto, o diagnóstico do diabetes baseia-se fundamentalmente nas alterações da glicose plasmática de jejum ou após uma sobrecarga de glicose por via oral (GROSS *et al.*, 2002). A curva glicêmica pós prandial de 2 horas (ou 120 minutos) também chamada de teste oral de tolerância à glicose – TOTG é o exame de detecção mais eficaz para confirmar os níveis plasmáticos de glicose, além de ser o exame mais sensível para identificar indivíduos com diabetes e alterações da tolerância à glicose (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Para consolidar o diagnóstico e caracterizar o grupo de diabetes, pede-se a titulação de anticorpos autoimune. Autoanticorpos têm sido usados amplamente como marcadores do Diabetes Mellitus 1 e do Diabetes Autoimune do Adulto. Entretanto, a especificidade e sensibilidade desses anticorpos marcadores do LADA são fracos se comparados com os achados no DM1 (QIN *et al.*, 2016).

O diabético tipo 1 pode apresentar nos exames de sangue os anticorpos ICA (autoanticorpo anti ilhota), IAA (autoanticorpo anti insulina), GAD ou GADA (autoanticorpos antidescarboxilase do ácido glutâmico) e IA-2 (autoanticorpos associados a insulinoma). Já o tipo 2, não apresenta autoanticorpos e sim uma resistência insulínica. (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007). O portador de LADA possui os mesmos perfis de titulação de anticorpos que o DM1, porém o mais sensível e específico biomarcador para o diagnóstico é o GAD ou GADA (QIN *et al.*, 2016).

Diante do quadro, estuda-se o tratamento necessário para o paciente. O tratamento precoce de pacientes com LADA consiste em mudanças na dieta e no estilo de vida, bem como uso de medicamentos hipoglicemiantes. No entanto, mais de 70% dos pacientes com LADA desenvolvem dependência de insulina ao longo do tempo, refletindo uma lenta e progressiva perda de células beta, indicando que a autoimunidade de células beta pode desempenhar um papel significativo na patogênese do LADA (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

A patogenia desse tipo de diabetes é causada tanto por fatores genéticos que estão sendo estudados, tanto quanto por fatores ambientais (GROSS *et al.*, 2002). Ocorre uma alteração epigenética, aumentando a acetilação de histonas, que deixa a cromatina frouxa e permite a transcrição do gene de acetilação pela redução da afinidade entre histona e DNA (MONTANHER; BODA; RIBEIRO NETO, 2015). As histonas H3 e H4 foram estudadas e os resultados evidenciam que a acetilação das mesmas é um dos causadores da patogênese do LADA (LIU; XU, 2015).

A doença acontece quando há o reconhecimento de marcadores na superfície de células TCD4+ com antígenos de superfície apresentados na membrana das células beta das ilhotas pancreáticas. Ao reconhecer os antígenos próprios das células beta produtoras de insulina como um corpo estranho, os anticorpos passam a destruí-las, e, portanto, a secreção de insulina é prejudicada, causando a hiperglicemia (LIU; XU, 2015).

2 OBJETIVO

Estudar o Diabetes Autoimune Latente do Adulto (LADA), entender como fazer seu diagnóstico corretamente buscando encontrar diferenças entre os outros tipos de diabetes baseados em sua fisiopatogenia, herança genética e fatores ambientais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feito um levantamento de artigos científicos experimentais e de revisões bibliográficas nas bases de dados: PubMed, Google Acadêmico, revista eletrônica Scielo e livros disponibilizados online e na Biblioteca Padre Inocente Radrizzanni do Centro Universitário São Camilo. Durante o período de fevereiro a outubro de 2018, nas línguas português, inglês e alemão.

Palavras – chave: Autoanticorpos. Diabetes autoimune latente em adultos – fisiopatologia. Diagnóstico. Insulina. Proteínas.

4 DESENVOLVIMENTO

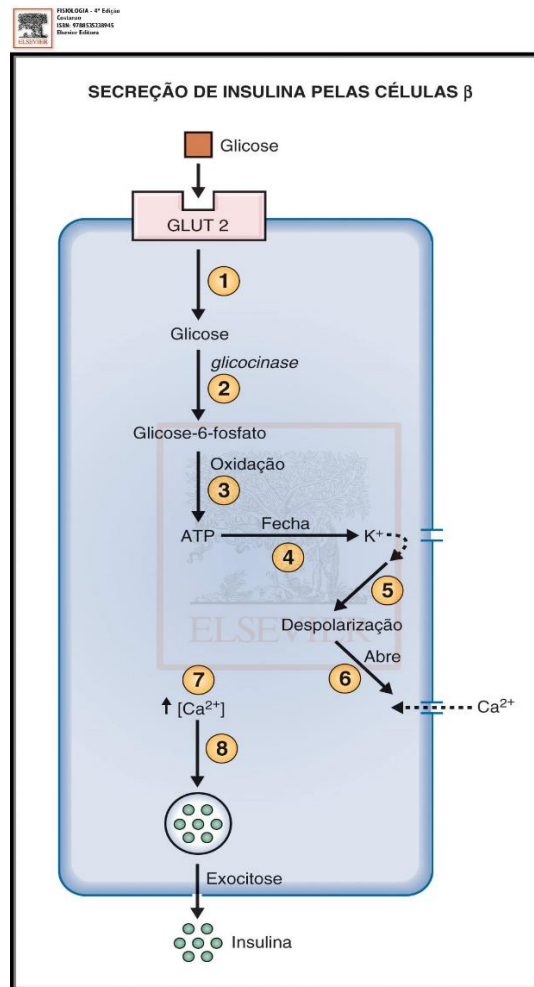
4.1 O que é Diabetes

4.1.2 Definição

Diabetes Mellitus é uma doença caracterizada pela elevação da glicose no sangue, é crônica e pode ocorrer devido a defeitos na secreção ou na ação do hormônio insulina. A insulina, por sua vez, é o hormônio hipoglicemiante, produzido no pâncreas, pelas chamadas células beta das Ilhotas de Langerhans e tem como função controlar a concentração de glicose presente no sangue. Esse hormônio é responsável por transportar a glicose obtida por meio da alimentação para dentro das células (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Quando a glicose se liga ao seu carreador de glicose pancreático, conhecido como GLUT 2, ela entra na célula beta por difusão facilitada. A glicose agora presente no citoplasma sofre oxidação, determinando o aumento de ATP. Ocorre o fechamento dos canais de potássio (K^+), que se acumulam no interior da célula causando a despolarização da mesma, e conseqüentemente, a abertura dos canais de cálcio (Ca^{2+}). O cálcio por sua vez, entra na célula beta pancreática e promove o movimento das vesículas que armazenam insulina, levando à fusão com a membrana celular, resultando na liberação de insulina, como demonstrado a seguir na figura 1 (ROCHA *et al.*, 2006).

Figura 1: Secreção de insulina pelas células beta pancreáticas.



Fonte: (COSTANZO, 2011).

Assim que a insulina ganha a circulação sanguínea, se liga a seus receptores na membrana das células do tecido muscular esquelético e do tecido adiposo, formando o segundo mensageiro, transmitindo a informação até o núcleo que, por sua vez, formará mais carreadores de glicose, dessa vez GLUT 4, a fim de se translocarem até a membrana celular para que a mesma entre na célula. Portanto, a falta de insulina ou um defeito na sua ação, resulta na complicação do transporte da glicose para dentro da célula, causando um acúmulo de glicose no sangue, o que é chamado de hiperglicemia (ROCHA *et al.*, 2006).

Por definição, diabetes é uma doença crônica que ocorre devido a uma interação entre fatores hereditários e/ou ambientais que levam a falta de secreção da insulina, aumento da glicose no sangue levando a sérias complicações. Há vários

perfis da doença que caracterizam diferentes grupos, entre eles, os dois maiores grupos de diabetes são o Diabetes Mellitus Insulino-Dependente, ou Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) e o Diabetes Mellitus Insulino-Independente, ou Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (ZIMMET, 1995; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007).

Contudo, a medida em que têm sido elucidados os processos de patogênese do diabetes, tanto em relação a marcadores genéticos como aos mecanismos da doença, o número de tipos distintos de diabetes se expandiu. Novas categorias têm sido acrescentadas à lista de classificações de diabetes, incluindo defeitos genéticos da célula beta e da ação da insulina, doenças que danificam o pâncreas, doenças relacionadas a outras endocrinopatias e casos decorrentes do uso de medicamentos (GROSS *et al.*, 2002), como mostrados no quadro 1.

Quadro 1: Classificação etiológica do diabetes mellitus.

-
- I. **Diabetes tipo 1**
 - destruição das células beta, usualmente levando à deficiência completa de insulina
 - A. auto-imune
 - B. idiopático
 - II. **Diabetes tipo 2**
 - graus variados de diminuição de secreção e resistência à insulina
 - III. **Outros tipos específicos**
 - A. Defeitos genéticos da função da célula β
 - B. Defeitos genéticos da ação da insulina
 - C. Doenças do pâncreas exócrino
 - D. Endocrinopatias
 - E. Indução por drogas ou produtos químicos
 - F. Infecções
 - G. Formas incomuns de diabetes imuno-mediado
 - IV. **Diabetes Gestacional**
-

Fonte: (GROSS *et al.*, 2002).

Nesse panorama, ganham ênfase categorias de tipos específicos de diabetes, como: Diabetes do Adulto de Início no Jovem (Maturity Onset Diabetes of the Young - MODY); Diabetes de Origem Mitocondrial; Diabetes Gestacional; e Diabetes Autoimune Latente do Adulto ou LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults). Esse, como um dos novos tipos descobertos, foi descrito a partir da década de 80, como

ocorrência de diabetes de origem autoimune de instalação insidiosa (GROSS *et al.*, 2002).

4.2 Breve Introdução: Os Tipos de Diabetes

4.2.1 Diabetes Mellitus insulino-dependente ou DM1

O DM1 é resultado da destruição das células beta pancreáticas por um processo imunológico autoimune, classificado como tipo 1A, ou seja, ocorre a formação de anticorpos pelo próprio organismo contra as células beta, levando a deficiência de insulina. Ou menos comumente, de causa desconhecida (forma idiopática; tipo 1B). Em geral costuma acometer crianças e adultos jovens, mas pode ser desencadeado em qualquer faixa etária. Na forma autoimune há um processo de insulite com a presença de autoanticorpos circulantes (anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico, anti-ilhotas e anti-insulina). De uma forma geral, a instalação do quadro de diabetes tipo 1 autoimune é relativamente abrupta e muitas vezes o indivíduo pode identificar a data de início dos sintomas (GROSS *et al.*, 2002).

O quadro clínico mais característico é de um início relativamente rápido de sintomas como: sede, diurese e fome excessiva, emagrecimento importante, cansaço e fraqueza. Se o tratamento não for realizado rapidamente, os sintomas podem levar à hiperglicemia, desidratação severa com perda de eletrólitos, acidose, podendo levar ao coma. Esse quadro mais grave é conhecido como cetoacidose diabética e necessita de internação para tratamento (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007). Por outro lado, na fase pré-diabética, é possível detectar os autoanticorpos até 10 anos antes do diagnóstico clínico. Isso significa que, o DM1 pode se manifestar de forma insidiosa quando criança, mas também pode se manifestar muitos anos depois, podendo ter início agudo mesmo em idosos (ZIMMET, 1995).

A suscetibilidade genética ao distúrbio, é transmitida através de genes associados à região DQ do antígeno leucocitário humano (HLA), e a destruição autoimune das células beta do pâncreas ocorre em indivíduos suscetíveis, devido a agentes ambientais ainda desconhecidos. Uma das descobertas mais importantes em diabetes nos últimos 50 anos, foi a identificação do antígeno de 64 kDa GAD, que é a sigla representativa para denominar o autoanticorpo antidescarboxilase do ácido

glutâmico, por Baekkeskov *et al.* em 1991, que renovou e estimulou o interesse na busca do(s) autoantígeno(s). Isso, abriu o caminho para uma pesquisa epidemiológica mais detalhada sobre o possível papel do GAD na etiologia do DM1, assim como o uso de ensaio anti-GAD como uma forma de prevenir futuros diabéticos tipo 1 em todas as idades e dependência de insulina em adultos com diabetes (ZIMMET, 1995).

4.2.2 Diabetes Mellitus insulino-independente ou DM2.

O diabetes tipo 2 é mais comum do que o tipo 1, perfazendo cerca de 90% dos casos. É caracterizada por distúrbios de ação e secreção da insulina, com predomínio de um ou outro componente. A etiologia específica deste tipo de diabetes ainda não está claramente estabelecida como no tipo 1. A destruição autoimune do pâncreas não está envolvida. Também ao contrário do diabetes tipo 1, a maioria dos pacientes apresenta obesidade (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

O diabetes mellitus tipo 2 clássico, caracteriza-se pela combinação de resistência a ação da insulina e a incapacidade da célula beta em manter uma adequada secreção do hormônio. A resistência insulínica se caracteriza pela diminuição da habilidade da insulina em estimular a utilização da glicose pelo músculo e pelo tecido adiposo. No fígado, leva ao aumento da produção hepática de glicose. Numa fase inicial, a elevação nos níveis de glicemia passa a ser compensada pelo aumento da secreção de insulina, mas, à medida que o processo persiste por períodos prolongados, associa-se um efeito glicotóxico, ou seja, o aumento da resistência à ação da insulina e diminuição da função da célula beta, devido à hiperglicemia crônica (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

A doença acomete principalmente adultos em média com 50 anos e observa-se, cada vez mais, o desenvolvimento do quadro em adultos jovens e até crianças. Isso se deve, principalmente, pelo aumento do consumo de gorduras e carboidratos aliados à falta de atividade física (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007). Portanto, a idade de forma isolada parece não definir a classificação, mas se aliada a outros fatores de risco variáveis como obesidade e ausência de cetoacidose, característico do diabético tipo 1, podem-se sugerir o diagnóstico do diabetes tipo 2 (GROSS *et al.*, 2002).

A instalação do quadro de DM2 é mais lenta e os sintomas - sede, aumento da diurese, dores nas pernas, alterações visuais e outros - podem demorar vários anos até se apresentarem. Se não reconhecido e tratado a tempo, também pode evoluir para um quadro grave de desidratação, podendo levar ao coma (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007). Contudo, o desenvolvimento da doença pode ter início devido a fatores de risco, como a ocorrência da doença na família, apresentando-se como um fator genético, tendo um papel fundamental na ocorrência do DM2 na faixa etária jovem (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

Os indivíduos afetados têm, pelo menos, um dos parentes de primeiro ou segundo grau manifestando a doença. Outra condição de risco para o desenvolvimento do diabetes é a obesidade ou sobrepeso, tanto em adultos como em jovens e crianças, dificultando a ação da insulina. O baixo peso ao nascer também é fator de risco a desenvolver a doença, pois indica nutrição inadequada intraútero, aumentando as chances de desencadear resistência insulínica durante a vida (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

4.2.3 MODY

O tipo MODY engloba um grupo heterogêneo de diabetes sem predisposição para a cetoacidose e sem obesidade, com hiperglicemia leve, com início antes dos 25 anos de idade e com várias gerações de familiares com diabetes, configurando uma herança autossômica dominante. Usualmente, estes pacientes apresentam um defeito de secreção de insulina relacionado a mutações em genes específicos. Estima-se que este tipo de diabetes seja responsável por cerca de 1% a 5% dos casos de diabetes (GROSS *et al.*, 2002).

4.2.4 Diabetes de Origem Mitocondrial

O diabetes de origem mitocondrial ou diabetes com surdez e herança materna, caracteriza-se por ocorrer em indivíduos jovens e sem obesidade. Inicialmente, a hiperglicemia é leve e pode progredir lentamente para graus mais avançados, que necessitam do emprego de insulina. Ocorre devido a uma mutação do DNA

mitocondrial interferindo com a produção de energia. Os pacientes usualmente apresentam surdez neurossensorial e distrofia macular. Com menor frequência, pode-se desenvolver miopatia, cardiomiopatia e doença renal (GROSS *et al.*, 2002).

4.2.5 Diabetes Gestacional

O diabetes gestacional é definido como a tolerância diminuída aos carboidratos, de graus variados de intensidade, diagnosticado pela primeira vez durante a gestação, podendo ou não persistir após o parto. Os fatores de risco associados ao diabetes gestacional são semelhantes aos descritos para o diabetes tipo 2, incluindo, ainda, idade superior a 25 anos, ganho excessivo de peso na gravidez atual, deposição central excessiva de gordura corporal, baixa estatura, crescimento fetal excessivo, líquido amniótico excessivo, hipertensão ou pré-eclâmpsia na gravidez atual, antecedentes obstétricos de morte fetal ou neonatal (GROSS *et al.*, 2002).

O rastreamento do diabetes é realizado a partir da primeira consulta pré-natal, utilizando-se a medida da glicose feita em jejum e com o objetivo de detectar a presença de diabetes pré-existente. A partir da 20ª semana da gravidez, realiza-se outra medida da glicose plasmática de jejum, com ponto de corte de 85 mg/dL, visando à detecção do diabetes gestacional. Esse ponto de corte apresenta sensibilidade de 69% e especificidade de 68% para o diagnóstico de diabetes e, portanto, cerca de 35% das gestantes deverão realizar um teste diagnóstico definitivo (GROSS *et al.*, 2002). A figura 2 indica o limite padrão para o rastreamento de diabetes gestacional.

Figura 2: Rastreamento do Diabetes gestacional através da medida da glicose plasmática em jejum.

<ul style="list-style-type: none">• <85mg/dl: rastreamento negativo; (na presença de fatores de risco para o diabetes gestacional, repetir a glicose plasmática de jejum ou indicar TOTG-75 g em um mês)• ≥ 85mg/dl: rastreamento positivo → indicar TOTG-75g. (se glicose de jejum ≥ 110mg/dl, confirmar imediatamente com medida de nova glicose de jejum ou com o TOTG-75 g).
--

Fonte: (GROSS *et al.*, 2002).

O diagnóstico de diabetes é confirmado com a realização do TOTG solicitado entre as 24^a e 28^a semanas de gestação. Se a gestante apresentar fatores de risco, o TOTG pode ser realizado mais precocemente, a partir da 20^a semana. As mulheres com diabetes gestacional devem ser reavaliadas com a medida da glicose de jejum ou com o TOTG, 6 semanas após o parto, com a finalidade de reclassificação do seu estado metabólico (GROSS *et al.*, 2002).

5 LADA OU DIABETES AUTOIMUNE LATENTE DO ADULTO

O termo diabetes autoimune latente do adulto ou *Latent Autoimmune Diabetes in Adults* (LADA) foi introduzido por Tuomi e Zimmet (1993) para definir pacientes diabéticos adultos que não requeriam insulina inicialmente, mas que apresentavam autoanticorpos contra as células beta e progressão mais rápida para insulino-dependência (CALSOLARI *et al.*, 2008).

Descrita sua ocorrência a partir da década de 80, ganhou inicialmente o nome de diabetes de origem autoimune de instalação insidiosa, Diabetes tipo 1 e ½ ou 1,5 ou Diabetes tipo 1 de início tardio e evolução lenta. Desde quando começaram a serem feitos estudos sobre a patogenia dessa doença, descobriram a presença de marcadores de autoimunidade em comum com o DM1 como o anticorpo ICA (autoanticorpo anti ilhota) e típicos haplótipos de HLA suscetíveis ao DM1, assim como marcadores que os diferenciam como outro subtipo (ZIMMET, 1995).

Resultante de interações complexas entre fatores genéticos e ambientais, a destruição das células beta pancreáticas é mediada por muitas células imunes, incluindo linfócitos TCD4+ e CD8+, linfócitos B, monócitos e macrófagos, que estão intimamente envolvidas na patogênese do LADA, tornando-os alvos de estudos, principalmente para o aprofundamento da doença (LIU; XU, 2015).

A idade do diagnóstico flutua entre 25 a 65 anos, sendo a idade de 35 anos classicamente considerada o marco de definição oficial do paciente que possui LADA. Os critérios de definição variam amplamente não apenas na idade, como na titulação de anticorpos encontrados, por exemplo. A prevalência do LADA tem sido estimada em diversas publicações, variando em virtude da população estudada (país), dos critérios usados, a idade do paciente e o tempo para ser feito o diagnóstico, assim como os anticorpos avaliados (CALSOLARI *et al.*, 2008).

Os pacientes portadores de LADA podem manter um bom controle metabólico com dieta e terapia hipoglicemiante oral por anos antes de se tornarem dependentes de insulina. Isto sugere que o processo autoimune pode avançar muito lentamente ao longo de muitos anos em pacientes idosos (ZIMMET, 1995).

O diagnóstico desse tipo de diabetes tem particularidades com os dois tipos de diabetes mais comuns, compartilha com o diabetes tipo 1 a evidência de

autoimunidade e falência de secreção de insulina pelas células beta e com o diabetes tipo 2, a idade de instalação e a presença de resistência insulínica (GROSS *et al.*, 2002).

A apresentação clínica inicial diferencia as duas formas de diabetes associadas aos autoanticorpos no adulto: LADA e DM1. O primeiro se caracteriza por ausência de cetoacidose ou hiperglicemia acentuada sintomática nos primeiros 6 a 12 meses, não havendo requerimento de insulina nesse período, o que assemelha o LADA em estágio inicial ao DM2 clássico; enquanto o DM1 é definido na presença de sintomas típicos de hiperglicemia (poliúria, polidipsia e/ou perda de peso), cetonúria ou cetoacidose, com necessidade de insulina no diagnóstico ou imediatamente após (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

Sendo o LADA geralmente diagnosticada em uma idade mais avançada em comparação com o DM1, os indivíduos afetados, portanto, frequentemente apresentam características da síndrome metabólica, dificultando a distinção entre a LADA e o DM2 (AL-MAJDOUB *et al.*, 2017). Portanto, muitos casos de estágio inicial de LADA permanecem classificados erroneamente como DM2 (QIN *et al.*, 2016).

Outra similaridade com o diabetes tipo 1, é o risco elevado do diabético tipo LADA desenvolver qualquer outra doença autoimune endócrina, como doenças autoimunes relacionadas a tireoide e adrenal. Estudos afirmam que essa relação está proporcionalmente relacionada com a alta titulação de autoanticorpo GAD (GADA), um dos autoanticorpos contra a célula beta pancreática, sendo esse um indicador da possibilidade de pacientes com DM1 e LADA desenvolverem doença autoimunes relacionadas a tireoide (SZEPIETOWSKA *et al.*, 2016).

Os autoanticorpos que podem ser detectados nessa forma da doença são os mesmos a serem detectados no DM1, são eles: os anticorpos ICA (autoanticorpo anti ilhota), IAA (autoanticorpo anti insulina), GAD ou GADA (autoanticorpos antidescarboxilase do ácido glutâmico) e IA-2 (autoanticorpos associados a insulinoma) (GROSS *et al.*, 2002). Porém, para o LADA a titulação positiva de GAD corresponde de 70 a 80% dos pacientes (ZIMMET, 1995).

Além da positividade de autoanticorpos, os pacientes com LADA carregam o polimorfismo do gene do fator de transcrição 7 (TCF7L2) que está associado ao DM2 e apresentam resistência à insulina, frequentemente resultando em DM2 como

classificação primária. Paralelo a isso, embora os alelos de alto risco do DM1, o antígeno leucocitário humano (HLA) -DR3 e o HLA-DR4 também tenham sido implicados na suscetibilidade ao LADA, outros alelos HLA (DR2 ou DQB1 * 0602) que são considerados proteção contra DM1 são mais comuns em LADA (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Contudo, o diagnóstico precoce de pacientes com LADA permite realizar reeducação alimentar associado a exercícios físicos regulares, como auxílio na melhora clínica do quadro, juntamente com a administração prescrita pelo médico de hipoglicemiantes orais. No entanto, mais de 70% dos pacientes com LADA desenvolvem dependência de insulina ao longo do tempo, refletindo uma lenta perda de células beta, indicando que a autoimunidade destas células pode desempenhar um papel significativo na patogênese da LADA (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

5.1 Epidemiologia

Inicialmente, era assumido que um adulto que apresentasse diabetes, teria diabetes tipo 2. A partir da década de 90, ficou claro que o diabetes tipo 1 é mais comum em adultos do que se acreditava e, na verdade, cerca de 60% dos casos são de pacientes que a desenvolvem após os 20 anos de idade. No entanto, pode não se apresentar da maneira clássica, de modo que muitas vezes foram encontradas dificuldades de classificar o diabético não obeso de 35 a 50 anos de idade, podendo haver uma variedade de etiologias diferentes neste grupo (ZIMMET, 1995).

Especulava-se que 15 a 20% de todos os diabéticos adultos poderiam ter LADA, e poderia constituir até 50% de diabéticos tipo 1 não obesos. Este valor seria ainda maior, pois a positividade anti-GAD não é o único marcador de autoimunidade neste grupo, dado que aproximadamente 20 a 30% não possuem anticorpos GAD positivos. Nem todos os que apresentam o fenótipo LADA serão necessariamente positivos para anti-GAD, e outros marcadores de diabetes autoimune, como ICA e IAA podem estar presentes quando ocorrem investigações mais detalhadas (ZIMMET, 1995). Tendo isso em vista, hoje sabe-se que entre 2% e 5% dos pacientes com diabetes autoimune (DM1 e LADA) são negativos para os quatro anticorpos clássicos, o que pode dificultar o diagnóstico correto da doença (QIN *et al.*, 2016).

Segundo estudos epidemiológicos, atualmente o LADA corresponde a aproximadamente 12% de todos os casos de diabetes, com uma incidência de duas ou três vezes maior que o clássico Diabetes Mellitus tipo 1, na população geral (QIN *et al.*, 2016). Hoje, no Brasil, há mais de 13 milhões de indivíduos portadores de diabetes, o que representa 6,9% da população. Porém não há uma estimativa atual para quantificar a porcentagem de diabéticos tipo LADA no Brasil, pela precariedade de estudos epidemiológicos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Um estudo feito por Calsolari, em 2008, em Minas Gerais, mostrou que a prevalência do LADA varia em virtude da população estudada, dos critérios usados e dos anticorpos avaliados. Em 256 pacientes com menos de 25 anos, foram encontrados 26 (10,2%) com anticorpos anti-GAD positivos, dos quais 16 (6,3%) evoluíram sem necessidade de insulina inicialmente (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

Baseado nos estudos feitos sobre diabetes, é possível afirmar que a sua prevalência aumenta ano após ano, e o LADA é o subtipo de diabetes o qual o mecanismo molecular ainda é desconhecido. Pela falta de conhecimento do mecanismo molecular, pelo sub diagnóstico de LADA e pelo aumento da taxa de diabéticos na população mundial é tão importante abordar as pesquisas sobre o estudo do LADA (LIU; XU, 2015).

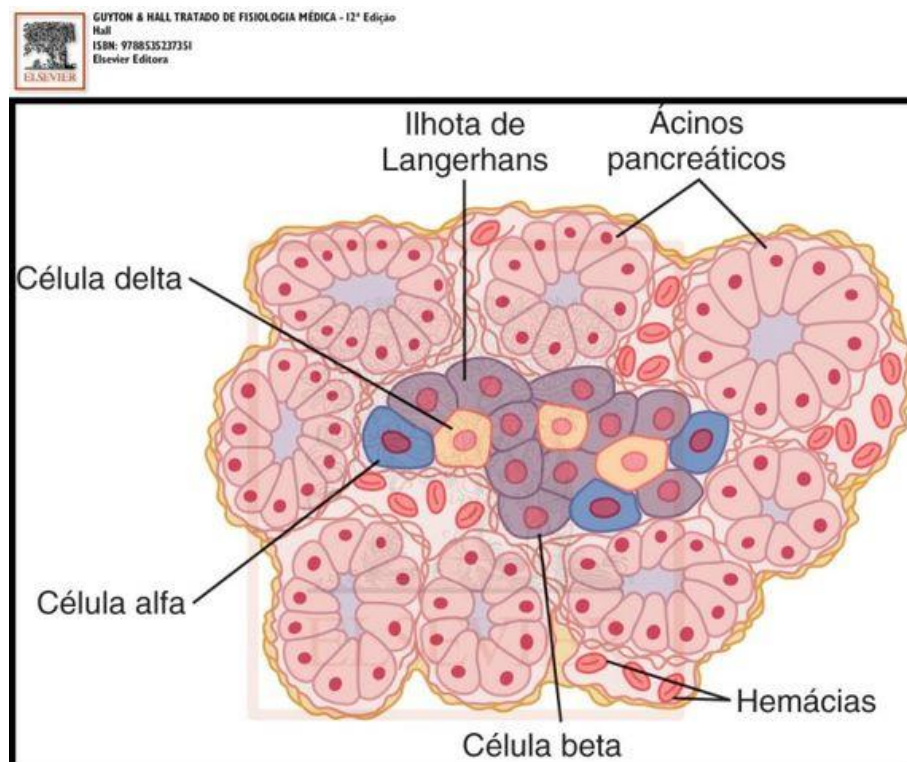
6 FISIOPATOGENIA

6.1. ESTADO NORMAL

Para abordar estudos sobre a patogenia do LADA é necessário entender o funcionamento normal do organismo não diabético e do diabético, e entre eles, desdobrar os possíveis acontecimentos que levariam o paciente a ser diagnosticado com LADA (GUYTON; HALL, 2011).

O pâncreas é dividido em pâncreas exócrino e endócrino, sendo o segundo, correspondente a aproximadamente 2% do órgão. Nele, se localizam as Ilhotas de Langerhans, que é dividido em 4 tipos celulares responsáveis pela síntese de diferentes produtos, são elas: As células alfa (correspondem a 25% das ilhotas e produzem glucagon), as células beta (somam 60% do total e produzem insulina), células delta (correspondem a 10% e produzem somatostatina) e células PP, que secretam o polipeptídeo pancreático e corresponde a apenas 5% das Ilhotas (GUYTON; HALL, 2011), conforme a figura 3.

Figura 3: A ilhota de Langerhans e sua composição celular.



Fonte: (GUYTON; HALL, 2011).

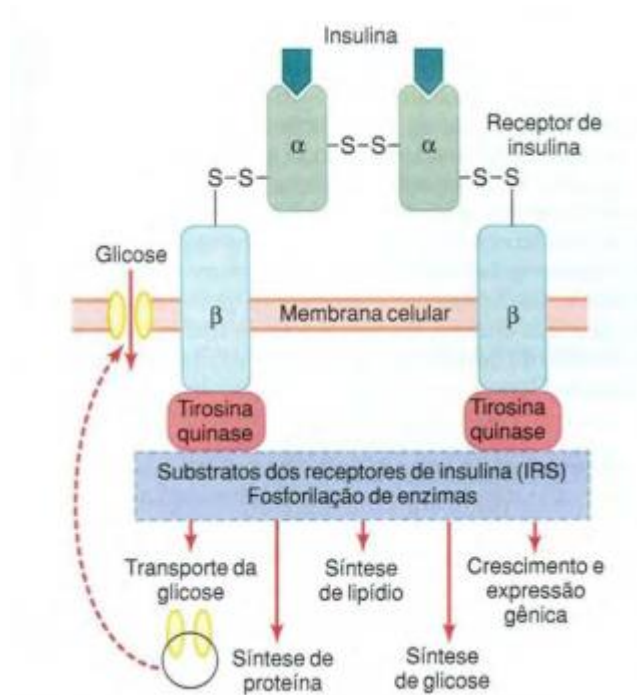
A insulina é o hormônio hipoglicemiante produzida pelas células beta das ilhotas de Langerhans, como resposta direta a hiperglicemia após a ingestão de carboidratos. Esses, são hidrolisados por enzimas digestivas a monossacarídeos, que por sua vez serão absorvidos pelas células intestinais por transporte ativo ou difusão simples. A glicose prevalente na corrente circulatória dará início ao processo de exocitose de insulina através da sua ligação ao carreador de glicose denominado GLUT (ROCHA *et al.*, 2006).

A liberação de glicose na corrente circulatória é o estímulo primário para as células beta pancreáticas secretarem e liberarem insulina. As células beta pancreáticas são permeáveis a glicose via proteína transportadora de glicose GLUT 2. Portanto, a concentração de glicose sanguínea, determina seu fluxo através da glicólise, ciclo do ácido cítrico e geração de ATP. O aumento na concentração de ATP inibe os canais de potássio (K^+) sensíveis ao ATP causando despolarização da membrana das células beta, levando a um aumento do influxo de cálcio (Ca^{2+}), via canais de Ca^{2+} sensíveis a voltagem, e o aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} estimula a exocitose de insulina (ROCHA *et al.*, 2006).

O receptor de insulina é uma grande proteína transmembranar consistindo de subunidades alfa e beta (CEFALU, 2001). As duas subunidades alfa estão ligadas a uma subunidade beta entre si por ligações dissulfeto. As subunidades alfas estão localizadas inteiramente fora da célula e contém os locais de ligação da insulina, enquanto que a porção intracelular da subunidade beta contém a proteína tirosina quinase regulada por insulina (WHITE e KAHN, 1994).

A insulina inicia seus efeitos celulares através da ligação à subunidade alfa do seu receptor e, assim, leva à autofosforilação de resíduos de tirosina da subunidade beta e este processo aumenta a atividade da tirosina quinase do receptor para outros substratos proteicos. Evidências consideráveis demonstram que a ativação do receptor da insulina quinase desempenha um papel essencial para muitos, se não todos, os efeitos biológicos da insulina (CEFALU, 2001). Na figura 4, podemos observar os efeitos da ligação glicose-insulina dentro das células.

Figura 4: Esquemática do receptor de insulina e seus efeitos dentro das células.



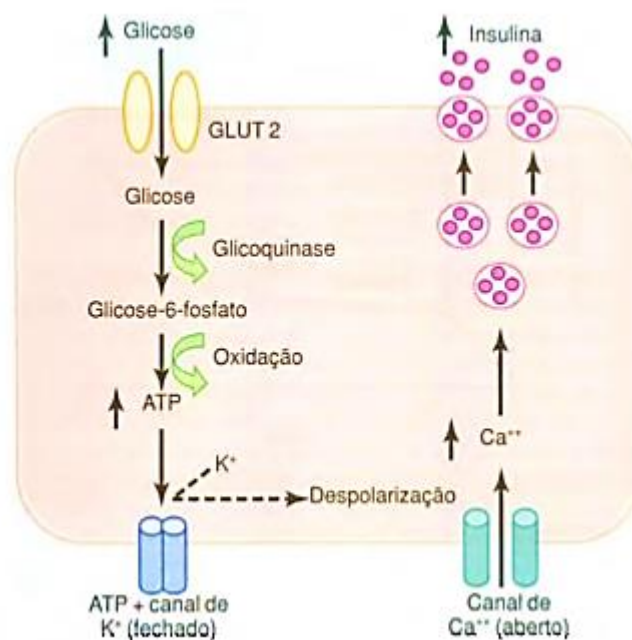
A insulina liga-se à subunidade alfa de seu receptor, o que provoca a autofosforilação do receptor da unidade beta, que, por sua vez, induz a atividade da tirosina quinase. Essa ativação induz uma cascata de fosforilação celular, podendo aumentar ou diminuir a atividade enzimática, incluindo os substratos dos receptores de insulina. Fonte: (GUYTON; HALL, 2011).

A insulina é sintetizada a partir da tradução do seu RNAm, por meio dos ribossomos ligados ao retículo endoplasmático para formar um pré-pró hormônio da insulina. Ele é clivado no retículo endoplasmático para formar a pró-insulina e sua maior parte é novamente clivada no aparelho de Golgi para formar a insulina e fragmentos de peptídeos antes desse hormônio ser revestido nos grânulos secretores (GUYTON; HALL, 2011).

Assim que a insulina é liberada, se liga ao receptor de insulina presente nas membranas plasmática das células. Um dos seus efeitos é estimular a captação de glicose pelos tecidos alvos, sendo esse trabalho facilitado pela translocação de mais transportadores de glicose dependente de insulina, o GLUT 4 presente na membrana celular dos músculos esqueléticos, do músculo cardíaco e do tecido adiposo, e o GLUT 2 presente nas células beta do pâncreas (ROCHA *et al.*, 2006).

Existem pelo menos cinco proteínas transmembranares homólogas, o GLUT 1, 2, 3, 4 e 5 codificados por genes distintos, possuindo diferentes propriedades cinéticas, especificidade e distribuição tecidual. Duas das principais proteínas identificadas são GLUT 1 e 4, presentes no músculo esquelético sendo o GLUT 1 responsável pela captação de glicose basal e o GLUT 4 a principal isoforma responsiva à insulina. Essa por sua vez, está presente no músculo esquelético e cardíaco, além do tecido adiposo, tecidos alvos de insulina (CEFALU, 2001). A sinalização intracelular a partir da ligação da glicose ao GLUT está ilustrado na figura 5:

Figura 5: Mecanismos básicos de estímulos pela glicose da secreção de insulina pelas células beta do pâncreas.



Fonte: (GUYTON; HALL, 2011).

Contudo, há outros efeitos que a ação da insulina pode causar, sendo entre eles: o aumento do transporte de glicose para as células, aumentando a oxidação da glicose; aumento da utilização celular e armazenando de glicose; síntese de glicogênio (glicogênese) no fígado e no músculo esquelético; aumento da síntese de lipídeos (lipogênese) e o aumento da síntese de proteínas pela maior utilização de

aminoácidos. Esses efeitos são fundamentais para manter o metabolismo em homeostase (GUYTON; HALL, 2011).

A insulina desempenha um papel importante no armazenamento do excesso de energia. No caso de excesso de carboidratos, a insulina faz com que sejam armazenados sob a forma de glicogênio, principalmente no fígado e nos músculos. Além disso todo excesso de carboidrato que não pode ser armazenado sob a forma de glicogênio é convertido sob o estímulo da insulina em gordura e armazenado no tecido adiposo. No caso das proteínas, a insulina exerce um efeito direto na promoção da captação de aminoácidos pelas células e na conversão destes em proteína. E também inibe o catabolismo das proteínas que já se encontram nas células (GUYTON; HALL, 2011).

6.2 No Diabetes:

6.2.1 Deficiência de Insulina: Músculo

A ausência de insulina causa depleção de proteínas e aumento dos aminoácidos plasmáticos. Toda reserva de proteínas é suspensa quando não há disponibilidade de insulina. O catabolismo de proteínas aumenta, a síntese de proteínas para, e grandes quantidades de aminoácidos são lançados no plasma. A concentração de aminoácidos plasmáticos aumenta consideravelmente, e a maior parte do excesso de aminoácidos é utilizada tanto diretamente como energia quanto como substratos para a gliconeogênese. Esta degradação dos aminoácidos também leva a um aumento de excreção da uréia na urina. O consumo de proteínas resultante é um dos efeitos mais graves do diabetes mellitus; pode levar a uma fraqueza extrema, assim como à alteração de diversas funções dos órgãos (GUYTON; HALL, 2011).

6.2.2 Deficiência de Insulina: Fígado

Quando a concentração de glicose que penetra nas células hepáticas é maior do que pode ser armazenada sob a forma de glicogênio, ou da que pode ser utilizada para o metabolismo dos hepatócitos, a insulina promove a conversão de todo este excesso de glicose em ácidos graxos. Estes ácidos graxos são subsequentemente associados sob a forma de triglicerídeos em lipoproteínas de densidade muito baixa,

e desta forma transportados pelo sangue para o tecido adiposo, onde serão depositados como gordura (GUYTON; HALL, 2011).

A ausência da insulina por qualquer complicação relacionada a ela, reduz a eficiência da utilização periférica da glicose e aumenta a sua produção, elevando a glicose plasmática para cerca de 300 a 1200 mg/dL. Esse resultado apresenta múltiplos efeitos em todo o organismo. Um dos efeitos reflete na perda de glicose pela urina, já que o aumento da glicose plasmática faz com que ela atravesse os túbulos renais numa concentração maior do que pode ser absorvida e o excesso de glicose passa a ser eliminado pela urina (GUYTON; HALL, 2011).

A hiperglicemia prolongada, no decorrer dos anos, promove o desenvolvimento de lesões orgânicas extensas e irreversíveis, afetando os olhos, os rins, os nervos, os vasos grandes e pequenos, assim como a coagulação sanguínea. Os níveis de glicose sanguínea persistentemente elevados são tóxicos ao organismo por quatro mecanismos diferentes: mediante a promoção da glicação de proteínas, geração de produtos finais da glicação avançada (AGE), induz a ativação de isoformas de PKC, o aumento na formação de derivados glicosilados e estimula um aumento no fluxo de glicose na via das aldose-redutases, resultando em um acúmulo de sorbitol dentro das células e ainda ativação das vias do diacilglicerol (DAG) e das hexosaminas. Esses são os mecanismos responsáveis pelas complicações do diabetes com destruição tecidual (ROCHA *et al.*, 2006; ANDRIOLO, 2018).

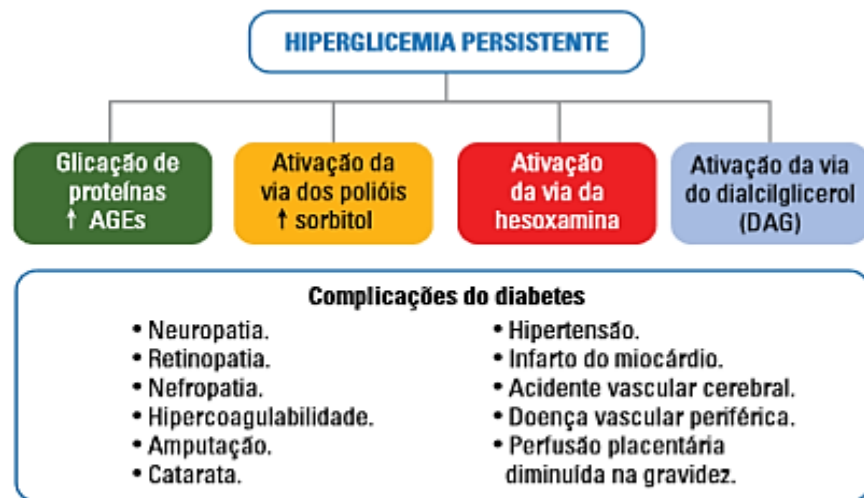
Os efeitos patológicos dos AGE estão relacionados à capacidade destes compostos de modificar as propriedades químicas e funcionais das mais diversas estruturas biológicas. Por meio da geração de radicais livres, da formação de ligações cruzadas com proteínas ou de interações com receptores celulares, os AGE promovem, respectivamente, estresse oxidativo, alterações morfofuncionais e aumento da expressão de mediadores inflamatórios. Durante algumas das reações que levam à formação de AGE, espécies reativas do oxigênio (ERO) são geradas e concorrem paralelamente com o estresse oxidativo e com os danos estruturais e funcionais às macromoléculas, contribuindo para a patogenia das micro e macroangiopatias (BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2008).

Além disso, o aumento da glicose plasmática pode causar uma grave desidratação celular em todo o organismo. Isso acontece parcialmente porque a

glicose não se difunde facilmente através dos poros das membranas celulares, e o aumento da pressão osmótica nos líquidos extracelulares causa uma transferência osmótica de água para fora das células. Além disso, a excreção de glicose pela urina causa diurese osmótica, ou seja, o efeito osmótico da glicose nos túbulos renais reduz enormemente a reabsorção tubular de líquidos. O efeito final é uma perda maciça de líquido pela urina, causando desidratação do líquido extracelular, conseqüentemente, desidratação do líquido intracelular de forma compensatória e aumento da sede, dando origem aos sintomas clássicos do diabetes (GUYTON; HALL, 2011).

Em doenças crônicas, assim como o diabetes, o estresse oxidativo e os danos teciduais se fazem presentes como marcas do desenvolvimento da doença. As condições em geral incluem complicações variadas em pequenos vasos, em artérias e em nervos periféricos. Isso acontece porque as células do endotélio vascular tornam-se alvos primários dos danos hiperglicêmicos por causa do fluxo contínuo de glicose através deles. Principalmente naqueles tecidos onde a captação de glicose é independente de insulina, como na retina, no cristalino, nos rins e nos nervos (ROCHA *et al.*, 2006), aumentando o risco de doenças com complicações crônicas, retinopatia, macroangiopatia, nefropatia e neuropatia. Além disso, à hipertensão, secundária a lesão renal, e a aterosclerose, secundária ao metabolismo anormal dos lipídeos (GUYTON; HALL, 2011), ilustrados na figura 6:

Figura 6: Mecanismos do desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes.



Adaptado de: Du X, et al. J Clin Invest. 2003 Oct;112(7):1049-57.³

Melmed S, et al. Williams Textbook of Endocrinology. 13th ed. United States of America: Elsevier, 2016.⁴

Fonte: (ANDRIOLO, 2018).

6.2.3 Deficiência de Insulina: Lipólise

A deficiência de insulina leva a alterações no metabolismo de lipídeos também, onde todos os efeitos que ela promove a fim de aumentar o armazenamento das gorduras são revertidos. O efeito mais importante é que a enzima lipase hormônio-sensível nas células adiposas torna-se intensamente ativada. Isto leva à hidrólise dos triglicerídeos armazenados, liberando grandes quantidades de ácidos graxos e glicerol no sangue. Conseqüentemente, a concentração plasmática de ácidos graxos livres torna-se então o principal substrato de energia utilizado essencialmente por todos os tecidos do organismo, com exceção do cérebro. Esse efeito então, aumenta a concentração de lipídeos no sangue e promove o desenvolvimento de aterosclerose em diabéticos em situação grave (GUYTON; HALL, 2011). O quadro 2, a seguir, mostra que algumas complicações em comum com os três tipos de diabetes podem ter incidência maior ou menor em cada tipo. Sendo a maioria delas similares as complicações entre diabéticos tipo 2 e LADA (ISOMAA *et al.*, 1999).

Quadro 2: Complicações Clínicas em pacientes Diabéticos Tipo 1, Tipo 2 e LADA.

	Type 2 diabetes	LADA	Type 1 diabetes
n (M/F)	59 (26/33)	59 (26/33)	111 (67/44)
Distal neuropathy	27	29	13*
Biothesiometer >10.3 V	83	79	41†
Biothesiometer >25 V	41	45	13†
Microalbuminuria (AER > 20 µg/min)	29	27	24
Retinopathy			
None	44	49	24*
Mild	39	28	55
Moderate	12	14	
Severe	5	9	21‡
Macular edema	7	12	ND
CHD	58	56	4.5†
ABI <0.9	27	27	5†

Data are %, unless otherwise indicated. For type 1 diabetic patients, mild and moderate retinopathy are grouped together. * $P < 0.05$ vs. LADA or type 2 diabetes; † $P < 0.001$ vs. LADA or type 2 diabetes; ‡ $P < 0.05$ vs. type 2 diabetes.

Fonte: (ISOMAA *et al.*, 1999).

Um dos fatores de risco que agravam o quadro de complicações do diabético é a obesidade, como já dito anteriormente, onde o tecido adiposo se apresenta hipertrofiado. Paralelo a isso, a obesidade cursa com alto grau de atividade inflamatória, especialmente no próprio tecido adiposo. Muitas das citocinas pró-inflamatórias geradas nesse tecido, pela infiltração de macrófagos ou pela produção dessas pelo próprio adipócito, causam resistência à insulina, limitando sua função (QUEIROZ *et al.*, 2009).

O predomínio de células hipertrofiadas reduz o fluxo sanguíneo, o que leva, em ocasiões extremas, à hipóxia neste tecido, à inflamação e à infiltração de macrófagos. Os macrófagos liberam fatores que prejudicam o processo adipogênico em células humanas. Ocorre ainda diminuição da capacidade tamponante de lipídeos pelo tecido adiposo, com conseqüente deposição ectópica de gordura nos demais tecidos. Esse fato, somado à produção anormal de adipocinas, torna-se responsável pelos distúrbios associados à obesidade, como, por exemplo, a resistência à insulina (QUEIROZ *et al.*, 2009).

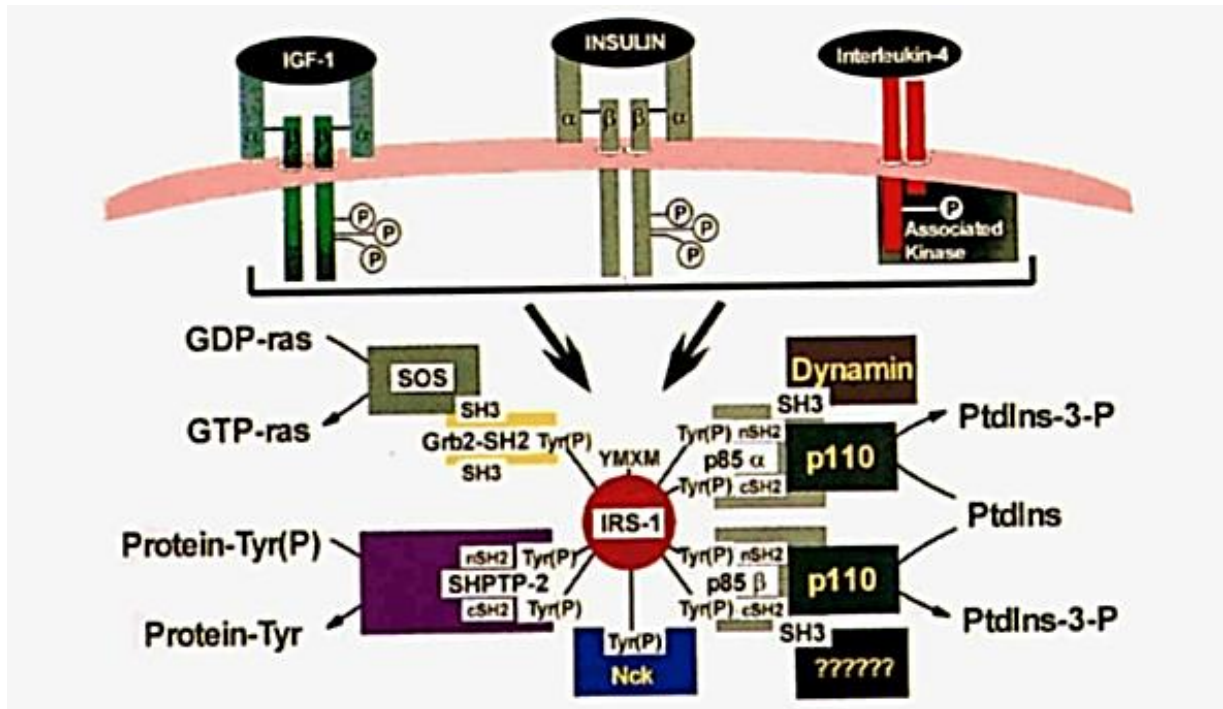
A resistência à ação da insulina (RI) é a complicação principal em diabéticos tipo 2 e LADA. Alguns fatores se relacionam com a expressão da RI, tais como diversidade racial, puberdade, obesidade e o peso ao nascer, assim como pode apresentar fatores geneticamente determinantes. Essa, é uma anormalidade primária e precoce no curso da doença, se caracteriza pela diminuição da habilidade da insulina em estimular a utilização da glicose pelo músculo e pelo tecido adiposo, prejudicando a supressão da lipólise mediada por esse hormônio (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

A oferta elevada de ácidos graxos livres devido a lipólise aumentada, altera ainda mais o transporte de glicose no músculo esquelético, além de funcionar como potente inibidor da ação da insulina. Os ácidos graxos livres podem também interferir no transporte da insulina através do endotélio capilar (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

No fígado, a resistência à ação da insulina leva ao aumento da produção hepática de glicose. Na fase inicial, a elevação nos níveis de glicemia é compensada pelo aumento da secreção de insulina, mas, à medida que o processo persiste por períodos prolongados, associa-se um efeito glicotóxico. Entende-se como efeito glicotóxico o aumento da resistência à ação da insulina e diminuição da função das células beta, devido à recorrência da hiperglicemia prolongada que o órgão é submetido, evoluindo para um quadro crônico (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

Diversas alterações podem levar à resistência insulínica, inclusive envolvendo o receptor de insulina (IR). Já está estabelecido, que as alterações nos mecanismos de ativação e fosforilação do receptor de insulina podem resultar em ação inadequada do hormônio. O receptor de insulina, além de fosforilado em tirosina, também pode ser fosforilado em serina, o que reduz a atividade hormonal. Essas fosforilações inibitórias têm efeito de feedback negativo na sinalização insulínica e podem provocar resistência à insulina. Tem sido relatado que a ativação da proteína quinase-C (PKC) induz a fosforilação da serina no receptor de insulina, o que pode inibir a atividade da tirosina quinase, levando a uma diminuição na atividade da quinase fosfatidilinositol-3 (PI3-quinase) induzida pela insulina (CARVALHEIRA *et al.*, 2003). O mecanismo de ação está ilustrado na figura 7.

Figura 7: Modelo do mecanismo de sinalização do receptor IRS-1.



O receptor de insulina, IGF-1 e IL-4 são mostrados estimulando a fosforilação em tirosina do IRS-1. A insulina e o receptor IGF-1 contém atividade quinase intrínseca que sofre autofosforilação depois da ligação do substrato. Acredita-se que o receptor de IL-4 se associe a uma tirosina quinase citoplasmática desconhecida que medeia a fosforilação em tirosina do IRS-1. Fonte: (WHITE; KAHN, 1994).

Outro importante fator que tem sido sugerido como mediador da resistência à insulina, em estudos realizados com animais obesos, é o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) através de sua superexpressão no tecido adiposo. Demonstrou-se que o TNF- α produz a fosforilação de serina no IRS-1 (pertencente à família de substrato do receptor de insulina), resultando na redução da atividade da quinase do receptor de insulina e conseqüentemente, resultando em resistência à insulina. Em roedores, os reagentes anti-TNF- α melhoraram a resistência à insulina (CARVALHEIRA *et al.*, 2003).

Além disso, as reduções na expressão da proteína IRS também podem contribuir para a resistência à insulina, podendo ser secundárias ao aumento da degradação dessas proteínas, como conseqüência do aumento dos níveis de fosforilação da serina, e/ou estar sob controle transcricional. A esse respeito, postulou-

se recentemente que os genes que codificam os IRS estão sob o controle transcricional das vias de sinalização JAK-STAT induzidas pela leptina, um hormônio produzido majoritariamente pelos adipócitos, responsável pelo controle da ingestão alimentar (CARVALHEIRA *et al.*, 2003).

Há um grupo de distúrbios e anormalidades que podem indicar o desenvolvimento de RI. Anomalias clínicas e laboratoriais associadas que representam esta síndrome consistem em diabetes mellitus tipo 2, obesidade, dislipidemia (aumento de triglicérides, diminuição HDL e aumento do LDL), hipertensão, fatores pró-trombóticos e antifibrinolíticos aumentados (isto é, hipercoagulabilidade) e uma predileção por doença cardíaca. Além disso, existem várias outras condições associadas à resistência à insulina que se referem a apresentações clínicas específicas, (como síndrome do ovário policístico, gravidez ou terapia com glicocorticóides) que podem incluir algumas ou nenhuma das características da resistência à insulina (CEFALU, 2001).

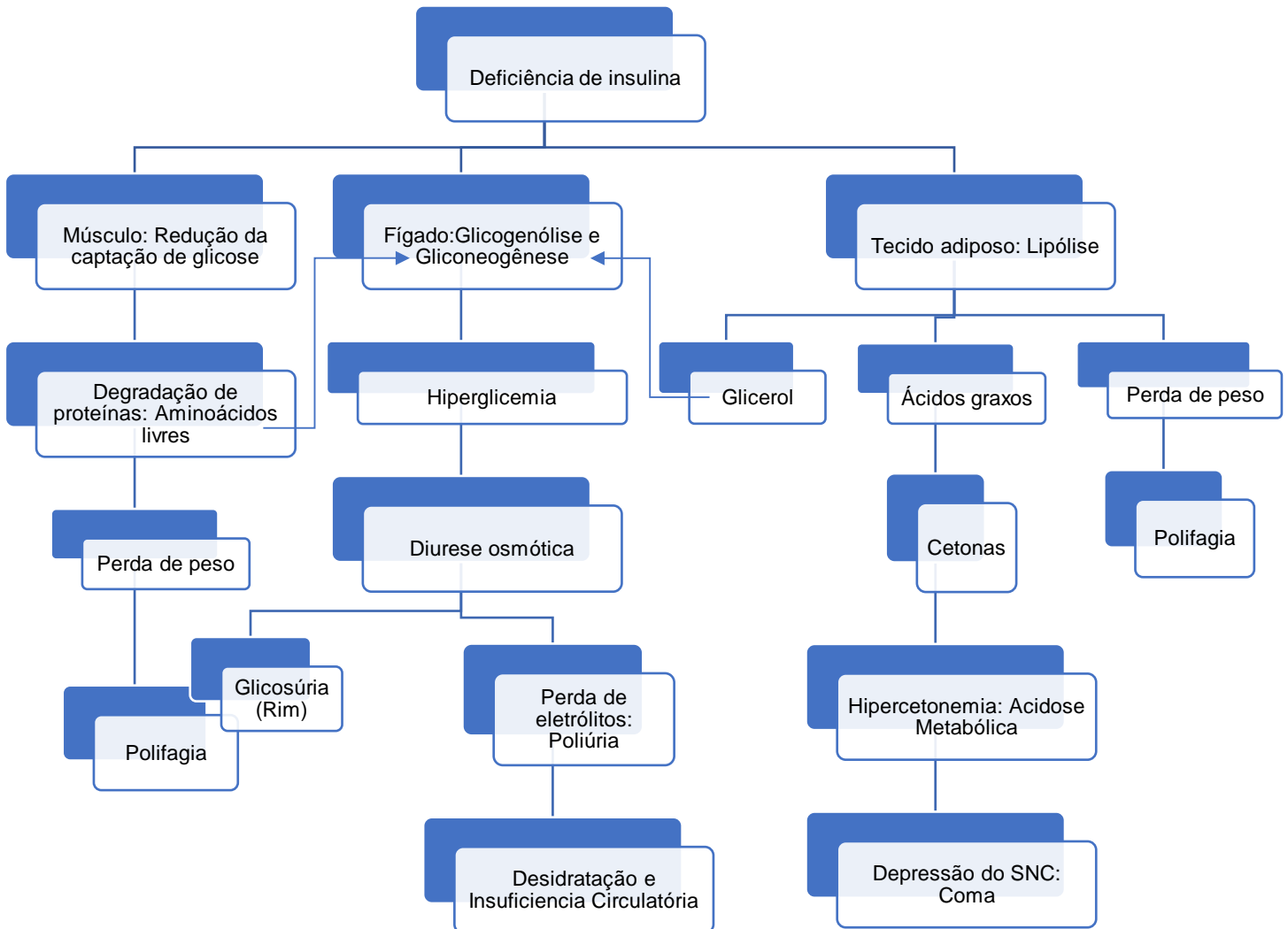
A ausência da insulina também forma quantidades excessivas de ácido acetoacético nas células hepáticas. Isto ocorre em consequência do seguinte efeito: na ausência da insulina, mas na presença de grandes quantidades de ácidos graxos nas células hepáticas, o mecanismo de transporte da carnitina para levar os ácidos graxos para as mitocôndrias torna-se cada vez mais ativo. Na mitocôndria, a beta-oxidação dos ácidos graxos ocorre muito rapidamente, liberando quantidades extremas de acetil-CoA. Uma grande parte desse Acetil-CoA é condensada de modo a formar o ácido acetoacético que, por sua vez, é liberado no sangue. A maior parte desse ácido passa para as células periféricas, onde é novamente convertido em Acetil-CoA e utilizado como energia na forma usual (GUYTON; HALL, 2011).

Ao mesmo tempo, a ausência de insulina também deprime a utilização desse ácido nos tecidos periféricos. Assim, a concentração de ácido acetoacético liberado pelo fígado não pode ser metabolizado a tempo pelos tecidos. Consequentemente, sua concentração aumenta levando a um estado grave de acidose (GUYTON; HALL, 2011).

Uma parte do ácido acetoacético também é convertido em ácido beta-hidroxi-butírico e acetona. Os 3 ácidos juntos são chamados de corpos cetônicos, e sua presença em elevadas concentrações no líquido corpóreo é chamada de cetose,

caracterizando assim o quadro de cetoacidose diabética, que pode levar ao coma e frequentemente, a morte (GUYTON; HALL, 2011). O esquema 1 abaixo mostra os efeitos da ausência de insulina.

Esquema 1: Efeitos da deficiência de insulina.



Fonte: Modificado de (GUYTON; HALL, 2011).

7 DIAGNÓSTICO

7.1 Características Clínicas

O diagnóstico correto e precoce do diabetes mellitus e das alterações da tolerância à glicose é extremamente importante, porque permite que sejam adotadas medidas terapêuticas que podem evitar o aparecimento de diabetes nos indivíduos com tolerância diminuída e retardar o aparecimento das complicações crônicas nos pacientes diagnosticados com diabetes (GROSS *et al.*, 2002).

O diagnóstico do diabetes inicia-se a partir dos sintomas físicos da doença, da idade do paciente, valores de índice de massa corporal (IMC), hábitos alimentares e exames laboratoriais. Os sintomas mais comuns que podem se manifestar no diabético são poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia, visão turva, entre outros. Complicações agudas também podem ocorrer e elevar o risco de morte, como a cetoacidose diabética e a síndrome hiperosmolar hiperglicêmica não cetótica (GROSS *et al.*, 2002).

Todas as formas de diabetes, inerentes ou adquiridas, são caracterizadas de acordo com Schmidt e Stern (2000), por: hiperglicemia; falta absoluta ou relativa de insulina (ou resistência à insulina); desenvolvimento de doenças micro e macrovasculares específicas do diabetes, como retinopatias, nefropatias, distúrbios neurológicos, amputação de membros inferiores. Por isso é importante que o diagnóstico seja feito o quanto antes e da maneira correta (ROCHA *et al.*, 2006).

Em algumas circunstâncias, como diabetes com início entre 25 a 30 anos, durante a gravidez e em pacientes em hemodiálise, o diagnóstico do tipo de diabetes é mais difícil, podendo ser necessária a utilização de alguns exames laboratoriais para estabelecer a possível causa. Entre estes, encontram-se marcadores de autoimunidade, como a medida de autoanticorpos relacionados à insulite pancreática e a avaliação da reserva pancreática de insulina através da medida do peptídeo C e da fase rápida de secreção de insulina (GROSS *et al.*, 2002).













Num paciente com diabetes de início abrupto, deve-se verificar a presença de obesidade. Em paciente com início agudo, não obeso e não pertencente à grupo étnico de risco, é mais provável que o mesmo seja portador de DM1. Quando o paciente for obeso, outros testes podem ser necessários, como a determinação do

peptídeo C de jejum e, ocasionalmente, a dosagem de autoanticorpos contra as células beta. Nos jovens com DM2, geralmente os autoanticorpos não estão presentes, e os níveis de peptídeo C estão geralmente normais ou elevados, apesar de não tão elevados como esperado para o grau de hiperglicemia (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

Na maioria dos pacientes, o diagnóstico de DM2 poderá ser baseado na apresentação clínica e no curso da doença. O diagnóstico de DM2 deve ser suspeito, sobretudo em pacientes adolescentes, negros, obesos, muitas vezes sem queixas clínicas, com história familiar positiva para a doença, e apresentando hiperglicemia e/ou glicosúria em exame de rotina. O aumento na prevalência da obesidade na adolescência registrado nos últimos anos explicaria, em grande parte, o avanço do DM2 em populações jovens. Estudos relacionam as elevadas taxas de obesidade na infância e adolescência ao sedentarismo e à mudança nos hábitos alimentares, frequentemente com dietas hipercalóricas e hipergordurosas. Outros estudos mostraram que a obesidade na infância e na adolescência constitui importante fator de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica, associada a doenças cardiovasculares na maturidade (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

O paciente portador de LADA tem seu diagnóstico dificultado por apresentar semelhanças no quadro clínico com o DM1 e o DM2. Semelhanças essas que podem ser diferenciadas com alguns exames laboratoriais. Com o Diabetes Tipo 1, há em comum a evidência de autoimunidade e falência de secreção de insulina pelas células beta; e com o diabetes tipo 2, a idade de instalação e a presença de resistência insulínica (GROSS *et al.*, 2002). Sendo assim, o quadro clínico que sugere a diferenciação entre o LADA e o DM1 se dá pela ausência de cetoacidose ou hiperglicemia acentuada sintomática nos primeiros 6 a 12 meses, não havendo requerimento de insulina nesse período (CAL SOLARI *et al.*, 2008), introduzindo assim, a hipótese de diagnóstico para o DM2, já que os indivíduos afetados frequentemente apresentam características da síndrome metabólica e idades de diagnóstico parecido, dificultando a distinção entre o LADA e o DM2. O motivo clínico que leva a suspeitar a ausência de DM2 é o paciente não obeso, dando início então à solicitação de exames laboratoriais mais específicos, como a titulação de autoanticorpos (AL-MAJDOUB *et al.*, 2017).

Esquema 2: Comparação dos tipos de diabetes.

	LADA	DM1	DM2
Autoimunidade			
Idade de diagnóstico avançada			
Ausência de cetoacidose ou hiperglicemia			
Resistência insulínica			
Doenças autoimunes endócrinas			
Alelos de alto risco			

Fonte: Modificado de (GROSS *et al.*, 2002; CALSOLARI *et al.*, 2008; RADENKOVIC *et al.*, 2016; SZEPIETOWSKA *et al.*, 2016; AL-MAJDOUB *et al.*, 2017).

7.2 Exames Laboratoriais

7.2.1 Teste de glicemia em jejum e Teste Oral de tolerância a glicose – TOTG

O quadro clínico para o diagnóstico de diabetes baseia-se fundamentalmente nas alterações da glicose plasmática de jejum ou após uma sobrecarga de glicose por via oral (GROSS *et al.*, 2002). A curva glicêmica pós-prandial de 2 horas (ou 120 minutos) também chamada de teste oral de tolerância à glicose – TOTG é o exame de detecção mais eficaz para confirmar os níveis plasmáticos de glicose no sangue, pois é mais sensível para identificar indivíduos com diabetes e alterações da tolerância à glicose. A glicose plasmática de jejum e a medida da glicose plasmática casual também são exames de detecção, realizados com 8 horas de jejum (CALSOLARI *et al.*, 2008).

A glicose plasmática de jejum elevada é menos sensível para identificar indivíduos de risco para doença cardiovascular e aumento da mortalidade. Além disso, a sensibilidade da glicose plasmática de jejum alterada (≥ 110 e <126 mg/dL) é menor (26%) do que a sensibilidade (50%) da glicose de 2h alterada no TOTG (≥ 140 mg/dL e <200 mg/dL) para prever o aparecimento de diabetes, segundo estudos de comparação feitos pela *National Health and Nutrition Examination Survey* (GROSS *et al.*, 2002).

Provavelmente, isto se deve ao fato de que glicose plasmática de jejum elevada e alterações da glicose plasmática após o TOTG não são equivalentes e não identificam o mesmo grupo de risco. As alterações da glicose plasmática de jejum estão mais relacionadas a um aumento da produção hepática de glicose e à diminuição global da secreção de insulina. Por outro lado, o aumento da glicose plasmática após a sobrecarga oral de glicose depende da diminuição do pico inicial de secreção de insulina, que é um mecanismo da patogênese do diabetes mais precoce do que a diminuição global da produção de insulina (GROSS *et al.*, 2002).

Portanto, o TOTG deve ser empregado como método diagnóstico de diabetes e das alterações da tolerância à glicose sempre que possível, especialmente nas seguintes situações: quando os valores de glicose plasmática em jejum estiverem acima de 110 mg/dL e abaixo de 126 mg/dL; em indivíduos com mais de 65 anos, independente dos valores de glicose plasmática, e em gestantes. A medida da glicose plasmática em jejum como diagnóstico apenas ficaria reservada para os casos em que não fosse possível realizar o TOTG (GROSS *et al.*, 2002). No quadro 3 a seguir, são abordados os valores de referência dos exames relacionados à glicose plasmática como métodos de diagnóstico de diabetes.

Quadro 3: Diagnóstico do diabetes mellitus e alterações da tolerância à glicose de acordo com valores de glicose plasmática.

CATEGORIA	Jejum	TOTG 75g – 2h	Casual
Normal	<110	<140	
Glicose plasmática de jejum alterada	≥ 110 e <126		
Tolerância à glicose diminuída	<126	≥ 140 e <200	
Diabetes melito	≥ 126	≥ 200	≥ 200 com sintomas
Diabetes gestacional	≥ 110	≥ 140	

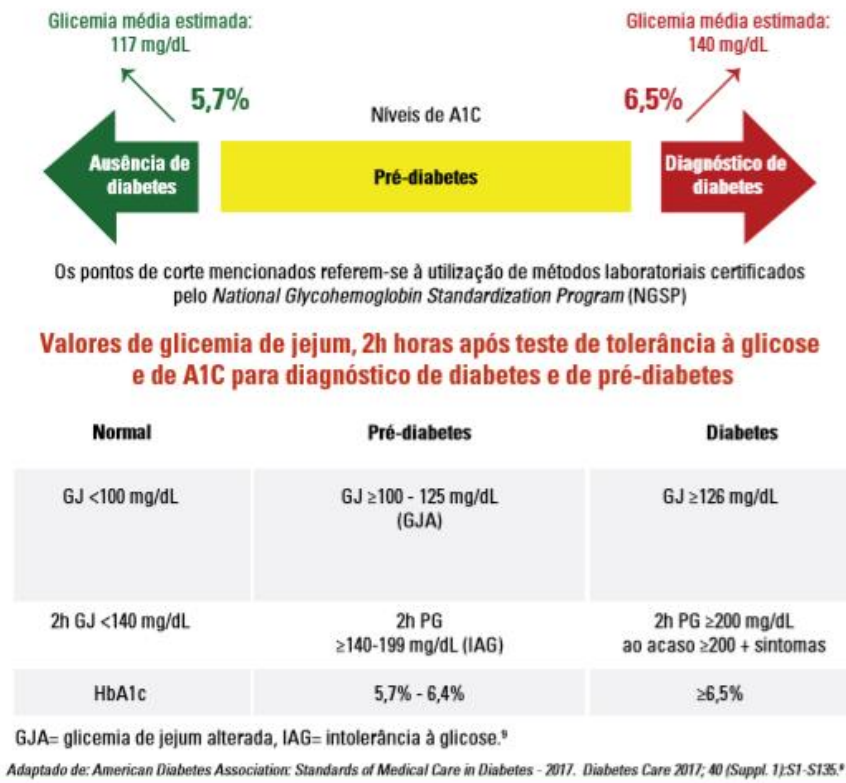
Fonte: (GROSS *et al.*, 2002).

7.2.2 Hemoglobina Glicada

A hemoglobina glicada (A1C), mais recentemente, passou a ser utilizada como teste de rastreio ou mesmo de diagnóstico para o diabetes adicionalmente ao teste de glicemia de jejum e do teste oral de tolerância à glicose (TOTG), além de ser um marcador de controle glicêmico. O termo refere-se a um conjunto de substâncias formadas com base em reações entre a hemoglobina A (HbA) e alguns açúcares. Resultando em HbA1 total, corresponde a formas de HbA carregadas mais negativamente devido à adição de glicose e outros carboidratos. Existem vários subtipos distintos de HbA1, tais como HbA1a1, HbA1a2, HbA1b e HbA1c. Desses todos, a fração HbA1c, ou apenas A1C, é a que se refere à hemoglobina glicada propriamente dita e corresponde a 80% da fração glicada (ANDRIOLO, 2018).

A HbA1 reflete a glicemia média dos últimos 2 a 3 meses, o que corresponde à meia-vida das hemácias. Quanto maior a glicemia, maior a concentração de A1C. Na prática, os valores normais de referência vão de 4% a 6%. Os valores de referência estabelecidos são: em torno de valores de 5,7% a 6,4% são classificados no grupo de pré-diabetes e teriam risco aumentado para desenvolver diabetes. Valores acima ou iguais a 6,5%, sugerem o diagnóstico de diabetes mellitus (ANDRIOLO, 2018). Na figura 8, vemos os valores de referência para os exames supracitados juntamente com o diagnóstico apropriado.

Figura 8: Valores de glicemia em jejum, teste de tolerância a glicose de 2 horas e hemoglobina glicada no diagnóstico do diabetes.



Fonte: (ANDRIOLO, 2018).

7.2.3 Peptídeo C

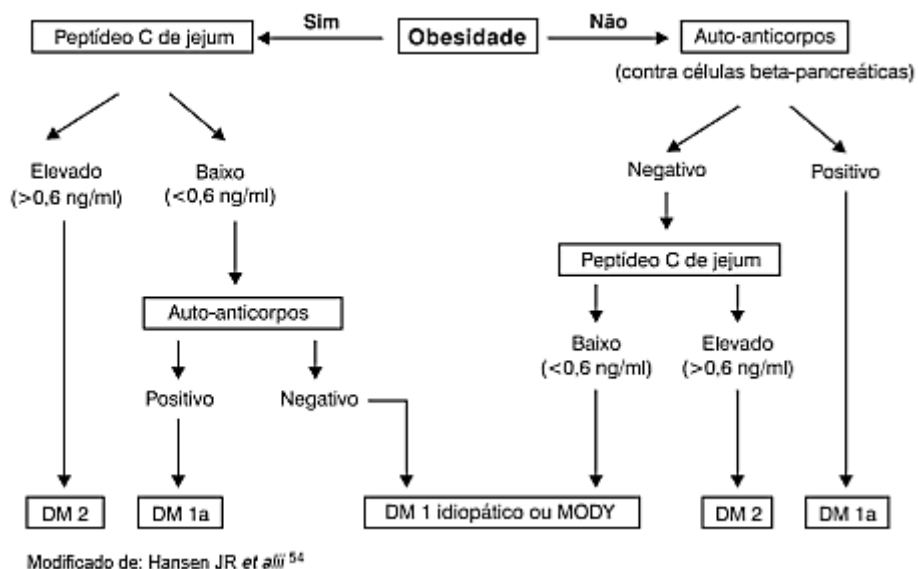
A forma de avaliar a capacidade de secreção das células beta pancreáticas é dosar o peptídeo C sérico. Este é um peptídeo que conecta as cadeias A e B na pró-insulina e facilita seu processamento à insulina biologicamente ativa nos grânulos secretórios das ilhotas pancreáticas. Após a clivagem da pró-insulina, o peptídeo C intacto permanece armazenado com a insulina nesses grânulos e é subsequentemente secretado com a insulina, em quantidades equimolares. Sendo assim, o peptídeo C pode ser considerado como um marcador independente da secreção de insulina (RODAKLI; MILECH; OLIVEIRA, 2007).

A dosagem de peptídeo C tem algumas vantagens em relação à determinação da insulina plasmática na avaliação funcional das células beta. Além de ter meia-vida mais longa (30 minutos), o que implica menor flutuação de níveis séricos, não sofre metabolização hepática significativa e possui clearance mais previsível. O teste para

mensuração do peptídeo C apresenta baixa reatividade cruzada com a pró-insulina e seus intermediários e raramente sofre interferência de anticorpos anti-insulina. Por esses motivos, a dosagem de peptídeo C tem sido considerada como o método mais adequado, aceito e clinicamente validado para avaliação da função das células beta pancreáticas. Sua longa meia-vida, no entanto, dificulta a observação de mudanças na secreção de insulina em intervalos curtos. Nesses casos, a dosagem de insulina sob estímulo de glicose pode ser mais útil (RODACKI; MILECH; OLIVEIRA, 2007).

Na maioria das vezes, o peptídeo C é detectável se $\geq 0,5$ ng/mL (0,2 mmol/L) e considerado dentro da faixa de normalidade entre 1,5 e 3,5 ng/mL (0,5 a 1,5 mmol/L) (RODACKI; MILECH; OLIVEIRA, 2007). Os valores de peptídeo C para classificação de diabetes mellitus podem ser observados na figura 9:

Figura 9: Diagnóstico do tipo de diabetes mellitus em crianças e adolescentes.



Fonte: (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

Estudos mostram que a concentração encontrada de peptídeo-C em pacientes com LADA é significativamente comprometida nos pacientes com altos títulos de GADA, porém essa diferença pode não ser detectada precocemente, especialmente com as dosagens basais (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

Os altos títulos de GADA também se associam à necessidade mais precoce de insulina. Comparando pacientes com LADA classificados como tendo baixos (> 1 U/mL e $< 17,2$ U/mL) ou altos ($> 17,2$ U/mL) títulos de GADA, encontramos menor resistência insulínica e menor frequência de componentes da síndrome metabólica naqueles com GADA em altos títulos. Estes apresentaram ainda uma maior redução dos níveis de peptídeo C, com requerimento precoce de insulina durante o seguimento (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

7.2.4 HOMA-IR

Na prática ambulatorial, é utilizado o índice HOMA-IR, que significa Modelo de Avaliação da Homeostase (*Homeostasis Model Assessment of IR*) e mede a determinação da insulinemia e da glicemia em jejum através da equação: insulinemia de jejum (mU/L) x glicemia de jejum (mmol/L)/22,5. Isso significa que esse índice avalia a resistência do organismo à insulina. Ou seja, quando os resultados estão acima dos valores de referência significa que existe resistência à insulina ou mau funcionamento das células do pâncreas. Considera-se como valor normal um HOMA-IR de até 3,0 (OLIVEIRA; SOUZA; LIMA, 2005).

Valores maiores de HOMA-IR indicam, no entanto, aconselhamento médico, exercício, e mudança no estilo de vida, independentemente se o indivíduo tem ou não uma doença metabólica (TANG *et al.*, 2015).

Além do HOMA-IR, pode ser usado o HOMA- β , usado para avaliar a capacidade das células betas pancreáticas, através da equação $\text{HOMA-}\beta = (20 \times \text{concentração plasmática de insulina em jejum (mU/L)}) / (\text{Glicose plasmática em jejum (mmol/L)} - 3.5)$ (TANG *et al.*, 2015). É útil ao acompanhamento terapêutico do DM2 (OLIVEIRA; SOUZA; LIMA, 2005). Os valores de referência variam com o IMC, como demonstrado na figura 10.

Figura 10: Valores de referência de HOMA-IR em relação ao IMC.

Valores de referênciado HOMA-IR	
• IMC até 25 kg/m ² :	0,4 a 2,9
• IMC entre 25 e 30 kg/m ² :	0,4 a 4,3
• IMC acima de 30 kg/m ² :	0,7 a 8,2

Fonte: (FLEURY, 2006).

No estudo realizado pelo Serviço Endócrino da Santa Casa de Minas Gerais, foram encontrados menores valores de índice de massa corporal (IMC) e HOMA-IR, menor frequência de componentes da síndrome metabólica e maior comprometimento da função das células-beta em adultos com DM1 comparados àqueles com LADA. Outro estudo também relatou menores concentrações de peptídeo C, colesterol total e triglicérides e maiores níveis de HDL em DM1 comparados com pacientes fenotipicamente tipo 2 com GADA positivo. No entanto, essas diferenças não são universalmente demonstradas. Foram atribuídos ao diabético tipo LADA menores valores de índice de massa corporal (IMC) e HOMA-IR, menor frequência de componentes da síndrome metabólica e maior comprometimento da função das células beta em adultos se comparados aos diabéticos com DM1 (CALSOLARI *et al.*, 2008).

8 AUTOANTICORPOS

Anticorpos dirigidos contra componentes das células beta têm sido descritos desde a década 80 e sua presença indica a existência de um processo autoimune que pode levar a destruição das células beta pancreáticas. Os autoanticorpos são marcadores do processo autoimune e não agentes patogênicos (GROSS *et al.*, 2002). Eles têm sido usados amplamente como marcadores do DM1 e do LADA. Entretanto, a especificidade e sensibilidade desses anticorpos marcadores do LADA são fracas se comparados com os achados no DM1 (QIN *et al.*, 2016).

O diabético com componente autoimune pode apresentar nos exames de sangue os anticorpos ICA (autoanticorpo anti ilhota), IAA (autoanticorpo anti insulina), GAD ou GADA (autoanticorpos antidescarboxilase do ácido glutâmico) e IA-2 (autoanticorpos associados a insulinoma). Eles estão presentes em cerca de 85 a 90% dos casos de DM1 no momento do diagnóstico. Já o DM2, não apresenta autoanticorpos (GROSS *et al.*, 2002; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2007). O portador de LADA possui os mesmos perfis de titulação de anticorpos, porém o mais sensível e específico biomarcador para o diagnóstico é o GAD ou GADA (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

Os autoanticorpos anti ilhota (ICA) são anticorpos policlonais do tipo IgG que reagem com todos os componentes das ilhotas e o anti-GAD e IA2 são subfrações do ICA. Os ICA foram os primeiros a serem relacionados à presença de diabetes tipo 1 autoimune. Estão presentes em cerca de 70 a 80% dos pacientes diabéticos tipo 1 logo após o diagnóstico, mas tendem a desaparecer após dois a três anos de duração da doença. Os anticorpos anti-GAD são encontrados em cerca de 80% dos pacientes tipo 1 de instalação recente e são ainda detectados em 50% dos pacientes após dez anos de diagnóstico. Em pacientes diagnosticados com LADA, a presença dos anticorpos anti-GAD foi superior à presença dos ICA. Portanto, o anticorpo anti-GAD parece ser o exame de escolha para confirmar o diagnóstico do diabetes tipo 1 e LADA. Os anticorpos anti-insulina (IAA) são os únicos específicos da célula beta e devem ser medidos antes de iniciar o tratamento com insulina (GROSS *et al.*, 2002).

A titulação desses autoanticorpos na população pode variar. Assim, se faz necessário estudos populacionais que avaliem proporcionalmente a titulação do anticorpo em relação ao paciente com LADA. Na maioria dos estudos realizados no

Brasil, Finlândia, Suíça entre outros países, mostraram que no diabetes tipo LADA há uma maior expressão do autoanticorpo GADA ou anti-GADA positivos. Uma frequência maior ainda foi observada em chineses. Em contraste, filipinos e africanos raramente apresentam GADA positivo (CAL SOLARI *et al.*, 2008). Abaixo, no quadro 4, observa-se a titulação de anticorpos e sua prevalência de acordo com estudos feitos em diversos países.

Quadro 4: A titulação do anticorpo GADA positivos em diabéticos sem requerimento de insulina inicialmente.

Referência	Local	Pacientes (n)	Anticorpo (s)	Idade (anos)	Prevalência
Esta	Brasil	256	GADA	> 25	6,3%
7	Itália	143	GADA	> 40	2,8%
8	Japão	4.980	GADA	> 20	3,8%
9	América do Norte	2.212	GADA	> 30	4,7%
9	Europa	1.922	GADA	> 30	3,7%
10	Inglaterra	3.672	GADA	25-65	10%
11	Finlândia	1.122	GADA	28-83	9,3%
12	Suíça	184	GADA e ICA	> 40	8% GADA; 3,2% GADA e ICA
13	Suíça	82	GADA	> 20	24%
14	Finlândia	133	GADA	45-64	9%

Fonte: (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

Um estudo realizado pela Serviço de Endocrinologia da Santa Casa de Belo Horizonte, revelou que em 256 pacientes, com menos de 2 anos de diagnóstico, foi encontrado GADA positivo em 16% dos indivíduos com idade entre 25 e 35 anos versus 13% entre 35 e 45 anos, os dados são mostrados no quadro 5 (CAL SOLARI *et al.*, 2008).

Quadro 5: Prevalência de GAD positivo, por faixa etária, em adultos diabéticos.

Faixa etária (anos)	Prevalência
25-35	10:62 (16%)
35-45	7:55 (12,7%)
45-55	5:65 (7,7%)
55-65	3:50 (6%)
> 65	1:24 (4,1%)

Fonte:(CALSOLARI *et al.*, 2008).

A autoimunidade e a resistência à insulina coexistem, em graus variáveis, nos pacientes com LADA, e a contribuição desses fatores está refletida nos títulos de GADA. Indivíduos com altos títulos de GADA e múltiplos autoanticorpos apresentam fenótipo distinto do DM2 clássico e apresentam maior risco para falência prematura das células beta. Em pacientes diabéticos com combinação de ICA e GADA ou GADA em altos títulos observa-se mais frequentemente deficiência de insulina e características fenotípicas semelhantes aos DM1 (CALSOLARI *et al.*, 2008).

Valores maiores de relação cintura-quadril, pressão arterial e triglicérides, e menores de HDL colesterol foram observados em pacientes com baixos títulos de GADA, quando comparados àqueles com altos títulos. A positividade para um único anticorpo ou GADA em baixos títulos associam-se com características clínicas e metabólicas de DM2 clássico (CALSOLARI *et al.*, 2008).

Embora a taxa positiva e o título de autoanticorpos possam ser úteis para a estratificação de risco e escolha terapêutica precisa em LADA, ambos os parâmetros são relativamente baixos em pacientes com LADA comparado com aqueles em DM1 clássico. Além disso, entre 2% e 5% dos pacientes com diabetes autoimune (DM1 e LADA) são negativos para os quatro anticorpos clássicos (GADA, IA-2A, IAA e ICA). Portanto, a busca por novos autoanticorpos continua. Embora novos autoanticorpos, como os específicos para transportador de zinco 8 (ZnT8A), sejam potenciais biomarcadores, eles não exibem especificidade e sensibilidade superiores na detecção de LADA. Assim, a identificação de uma nova proteína plasmática pode ser usada efetivamente para distinguir o estágio inicial de LADA do DM2 (QIN *et al.*, 2016).

9 ESTUDOS SOBRE LADA

9.1 Estudos Envolvendo Proteínas Plasmáticas

9.1.1 A busca por um perfil metabólico que diferencie LADA

A identificação de biomarcadores que distinguem os subtipos de diabetes entre si pode ter grande valor clínico. O LADA está associada a uma progressão mais rápida da terapia de reposição de insulina em comparação com o DM2, tornando difícil de distinguir do DM2 no momento do diagnóstico. Isso se deve em grande parte à heterogeneidade do LADA, combinando diferentes características metabólicas e genéticas de dos dois tipos de diabetes mellitus (AL-MAJDOUB *et al.*, 2017).

Segundo estudo feito por Al-Majdoub e colaboradores (2017), não há um marcador metabólico único que diferencie os tipos de diabetes para ajudar no diagnóstico. Em vez disso, os três tipos de diabetes foram encontrados ao longo de um perfil metabólico. Ao fazer a análise de 64 metabólitos de baixo peso molecular, foram identificados 51 que diferiram entre os tipos de diabetes. Nenhum perfil de metabólito pôde ser identificado exclusivamente para qualquer um dos tipos (AL-MAJDOUB *et al.*, 2017).

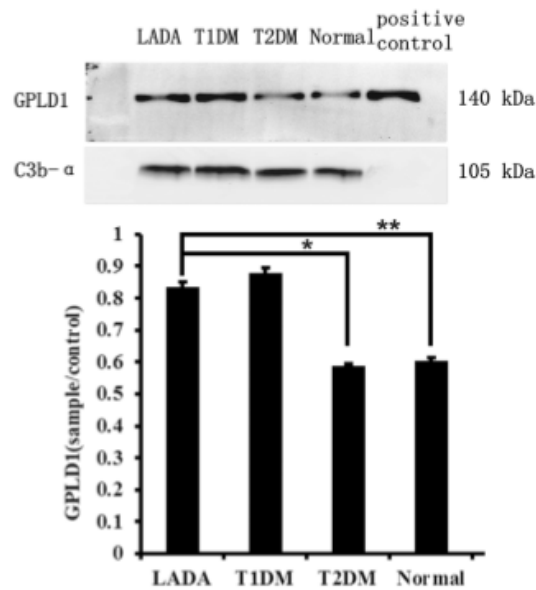
Os níveis plasmáticos de peptídeo C foram os mais fortes determinantes do perfil do metabólito. Todos os metabólitos, exceto três, mostraram níveis mais baixos em pacientes com DM1 do que naqueles com LADA e DM2. Os dois discriminantes mais fortes entre os tipos de diabetes foram alanina e ácido úrico. A alanina é um componente central do ciclo alanina-glicose, ligando a proteólise tecidual à gliconeogênese hepática e ao ciclo da uréia. Já o ácido úrico, sugere-se que reflita na depleção de ATP tecidual (AL-MAJDOUB *et al.*, 2017).

Os pacientes com LADA que apresentaram uma maior semelhança metabólica com pacientes com DM2 apresentaram uma progressão mais lenta para a terapia com insulina do que aqueles que apresentaram uma maior semelhança metabólica com DM1, apesar de apresentarem níveis semelhantes de peptídeo-C. Com isso, o metaboloma do LADA foi um intermediário do observado em DM1 e DM2, com sobreposição significativa com ambos os tipos de diabetes, mas mais semelhante ao último. De todos os dados achados, é possível sugerir que DM1 e DM2 represente os extremos no perfil metabólico (AL-MAJDOUB, *et al.*, 2017).

9.1.2 A possível origem dos autoanticorpos e outras proteínas.

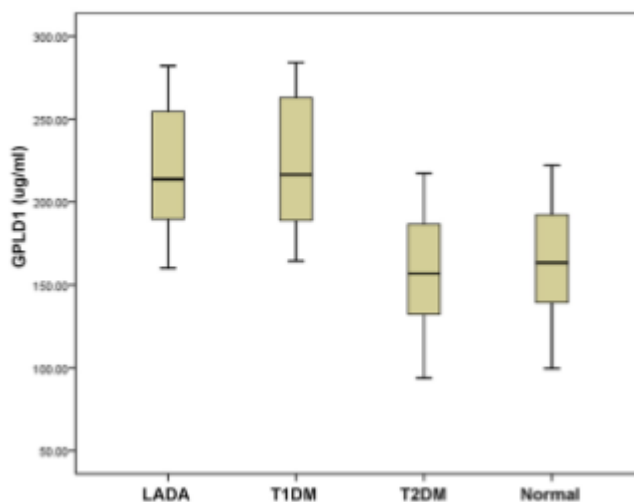
Um outro estudo realizado em 2016, na China, identificou proteínas que mostram mudanças significativas na sua expressão no diabético LADA. Foram identificadas 311 proteínas únicas, sendo 157 presentes nos grupos controle, LADA e normal. Entre eles, 49 de 311 (16%) das proteínas apresentaram mudanças significativas, em abundância no grupo LADA em comparação com o grupo controle normal, incluindo a GPLD1 (uma hidrolase, de nome glicosilfosfatidilinositol fosfolipase D), que foi regulada positivamente em ambas as coortes (LADA e DM1, em comparação com as coortes de DM2 e controle normal). Para todos os casos de diabetes incipiente, a GPLD1 distinguiu o DM2 e o LADA no estágio inicial. Além disso, não houve diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de GPLD1 entre as coortes LADA e DM1, indicando que, ao contrário dos quatro autoanticorpos atualmente utilizados como marcadores, GPLD1 pode ser usado para detectar LADA e DM1 com eficiência igual (QIN *et al.*, 2016), como observamos nas figuras 11 e 12 abaixo:

Figura 11: Resultado de Western Blot na expressão relativa de GPLD1 analisadas nos quatro coortes: LADA, DM1, DM2 e paciente normal.



Análise de Western Blot: GPLD1 isolado do plasma humano foi usado como controle positivo. Não há diferença significativa nas expressões de GPLD1 observados nos coortes de LADA e DM1. No entanto, houve uma diferença significativa entre os coortes de LADA e DM2 e LADA e controle. Fonte: (QIN *et al.*, 2016).

Figura 12: Resultado de ELISA na expressão relativa de GPLD1 analisadas nos quatro coortes: LADA, DM1, DM2 e paciente normal.



Não houve diferença significativa na expressão de GPLD1 observada entre o coorte de LADA e DM1. No entanto, houve uma diferença significativa entre os coortes de LADA e DM2 e LADA e controle. Fonte: (QIN *et al.*, 2016).

Sendo assim, foi mostrado que GPLD1 pode ser usado para determinar coortes de LADA e DM2, embora a sensibilidade e especificidade do GADA ser ligeiramente superior ao da GPLD1. Entretanto, as mudanças na expressão de GPLD1 e GADA nem sempre foram consistentes. Por exemplo, alguns casos de LADA ou DM1 deram positivo para GADA, mas negativos para GPLD1, enquanto o inverso foi verdadeiro em alguns outros casos. Assim, a GPLD1 pode ser útil para o diagnóstico em alguns casos (QIN *et al.*, 2016).

Este, foi o primeiro estudo a descrever uma relação entre uma proteína plasmática que seria eficaz na diferenciação do diagnóstico da fase inicial de LADA e DM2. Contudo, entre os métodos de diagnóstico estabelecidos, o GADA tem maior sensibilidade e especificidade do que a GPLD1, embora essa ainda possa ser uma proteína promissora (QIN *et al.*, 2016).

A GPLD1, chamada de glicosilfosfatidilinositol fosfolipase D específica, é uma hidrolase da via da biossíntese da âncora glicosilfosfatidilinositol (GPI). GPLD1 libera proteínas de membrana ancoradas pelo GPI ao hidrolisar a âncora antes e depois de ligação a proteínas. A âncora GPI liga muitas proteínas às membranas, ocorrendo em

uma ampla variedade de eucariotos, de levedura a mamíferos. Nos mamíferos, a âncora GPI liga muitas proteínas funcionais, como enzimas, receptores, moléculas de adesão celular e antígenos de diferenciação para membranas celulares (QIN *et al.*, 2016).

Já é conhecido que o fígado e as ilhotas pancreáticas são fontes prováveis de GPLD1 cDNA e de GPLD1. O gene GPLD1 está ligado à suscetibilidade de malignidades pancreáticas e gástricas e sabe-se que variações genéticas influenciam níveis plasmáticos de GPLD1. A estreita relação entre GPLD1 e ilhotas pancreáticas pode ser uma importante causa do aumento das concentrações plasmáticas de GPLD1 entre os pacientes com LADA ou DM1. Por isso, o papel potencial da GPLD1 no LADA é uma preocupação atual (QIN *et al.*, 2016).

É bem conhecido também que o GAD65, uma forma predominante de GAD no pâncreas, é importante na LADA e no DM1 clássico. Embora estudos anteriores tenham mostrado que pacientes com LADA tendem a ser positivos para o anticorpo anti-GAD, o mecanismo responsável pela geração desses anticorpos é amplamente desconhecido. Curiosamente, o GAD65 é uma proteína citosólica solúvel que pode ser ancorada nas membranas e liberada dela através de mudanças na atividade enzimática. Além disso, a correlação do tempo entre a regulação positiva de GPLD1 e o surgimento de GADA destaca a possível relação entre esses dois eventos (QIN *et al.*, 2016).

A função da GPLD1 é hidrolisar a âncora GPI e liberar proteínas ancoradas a GPI levando ao desenvolvimento de autoanticorpos. Portanto, a capacidade de GPLD1 para clivar GAD65 ou anti-GAD da âncora GPI levando à LADA representa um problema para posterior investigação. Pode-se especular que o desenvolvimento de outros autoanticorpos encontrados em LADA pode ser explicado pelo mesmo mecanismo. Além disso, a evidência acumulada sustenta as associações entre doenças autoimunes, com co-morbilidade autoimune envolvendo tipicamente DM1 e outras doenças autoimunes, sugerindo que elas compartilham um mecanismo subjacente comum, que pode ser semelhante ao descrito envolvendo a função da GPLD1 na hidrólise da âncora GPI (QIN *et al.*, 2016).

Além disso, o potencial papel regulador da GPLD1 em reações inflamatórias crônicas pode ser outro mecanismo subjacente ao desenvolvimento de LADA. Dados

anteriores sugerem que a inflamação crônica das ilhotas pancreáticas está conectada com a patogênese do DM1. Nesta, os componentes das respostas inflamatórias que contribuem para a destruição das células beta incluem células TCD4+ e CD8+, macrófagos e células natural killer (NK). A relação potencial entre autoimunidade das células das ilhotas e marcadores inflamatórios pode ser semelhante no LADA (QIN *et al.*, 2016).

É possível que, ao hidrolisar as âncoras GPI de algumas proteínas da membrana inflamatória e aumentar a expressão de citocinas macrofágicas, a GPLD1 possa ter um papel importante na inflamação e na patogênese da LADA. Além disso, a GPLD1, localizada principalmente no Golgi, retículos endoplasmáticos e vesículas, pode entrar na via de processamento do MHC-I, dependendo de genes específicos relacionados ao DM1 (QIN *et al.*, 2016).

9.2 Estudos Envolvendo Células Do Sistema Imunológico

9.2.1 Células TCD4+ e a acetilação de histonas

Um estudo realizado na China, procurou obter resultados na acetilação ou desacetilação de histonas de células TCD4+, as principais envolvidas na autoimunidade da LADA. Como já é conhecido, a acetilação de histonas representa um papel importante na regulação da expressão de genes. E estudos mais recentes comprovaram que a mesma pode ser a causa de doenças autoimunes. Sendo assim, é possível supor que a acetilação de histonas poderia então estar envolvida na patogênese da LADA (LIU; XU, 2015).

A acetilação das histonas, ou mais precisamente de seus aminoácidos lisina, faz com que a carga positiva das mesmas seja neutralizada, e ocorra o enfraquecimento da interação da cauda da histona com o DNA local carregado negativamente, induzindo abertura local das estruturas da cromatina. Desta forma, o DNA local é exposto, aumentando o acesso a fatores de transcrição e promovendo aumentos significativos na transcrição gênica. O grupo acetil na acetilação da histona é retirado da Acetil-Coenzima A, e na desacetilação da histona o grupo acetil é transferido para a Coenzima A. Com isso, a acetilação de histonas leva à maior transcrição dos genes acetilados, enquanto a desacetilação reprime a transcrição desse gene (MONTANHER; BODA; RIBEIRO NETO, 2015).

Para compor este estudo, investigou-se a acetilação global da histona H3 e o estado de acetilação de H4 e os padrões de expressão gênica de histona acetiltransferases e histonas desacetilases que regulavam a acetilação de histonas em linfócitos TCD4+ de pacientes com LADA e controles saudáveis. Foram incluídos 56 voluntários em dois grupos, o primeiro com 28 pacientes com diagnóstico de diabetes autoimune em adultos (LADA) e o segundo com 28 indivíduos saudáveis como controle (LIU; XU, 2015).

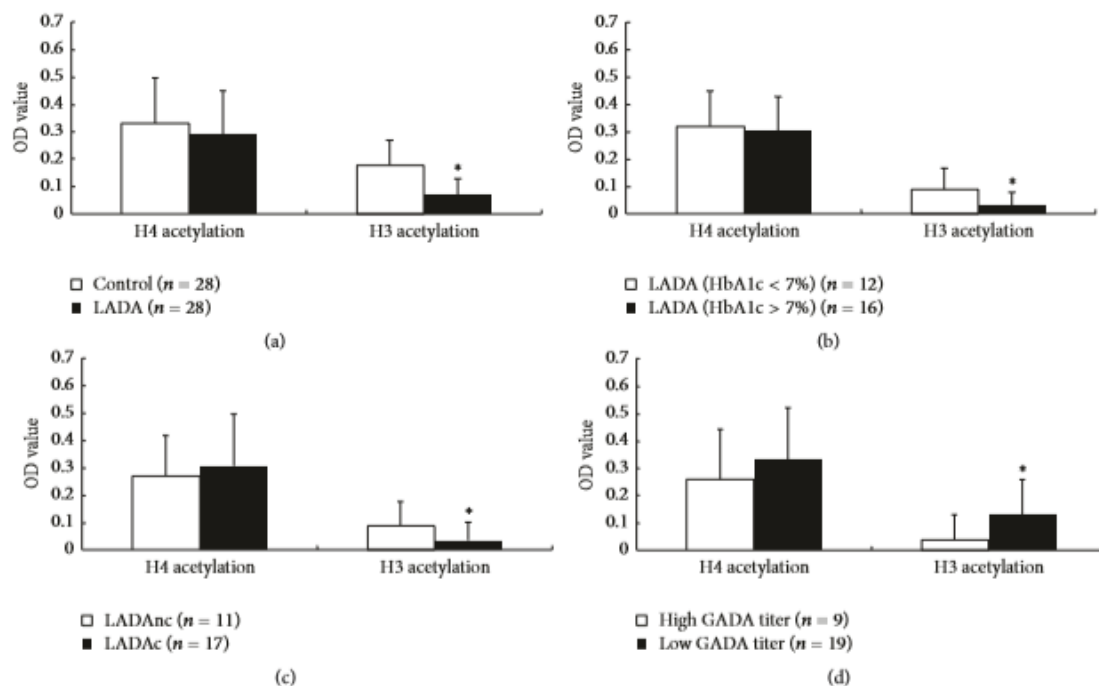
Foi observado que a redução da acetilação H3 global foi mais acentuada nos linfócitos TCD4+ de pacientes com LADA em relação aos controles saudáveis. Os níveis de acetilação H4 mostraram uma diferença estatística mínima entre os pacientes diabéticos e o grupo controle. Após, foi observado a relação entre acetilação da H3 e HbA1c (hemoglobina glicada). A acetilação dos linfócitos TCD4+ dos pacientes com LADA estava relacionada à HbA1c. No entanto, os linfócitos TCD4+ com acetilação da H3 dos pacientes com LADA não se relacionavam com a glicose sanguínea pós prandial, peptídeo C em jejum, peptídeo C pós prandial, idade, duração da doença, nefropatia diabética e doença cardiovascular (LIU; XU, 2015).

Ao comparar os pacientes com LADA com baixo título de GADA aos com títulos mais elevado de GADA, foi observado uma redução da acetilação da H3 global nos linfócitos TCD4+ de pacientes com LADA com alto valor de GADA. Permitindo constatar que, a redução da acetilação de H3 global existente nos linfócitos TCD4+ de pacientes com LADA e a redução da alavanca de acetilação de H3 foram associadas ao título de GADA (LIU; XU, 2015).

Para investigar as causas da redução dos padrões de acetilação H3 em pacientes com LADA, foi avaliado também os níveis de RNAm do modificador de histonas. Os resultados mostraram que a expressão de histona acetiltransferase CREBBP em LADA foi reprimida e a expressão de histona desacetilase HDAC1 e HDAC7 foi regulada positivamente (LIU; XU, 2015).

A acetilação de histona é regulada por histona acetiltransferases e desacetilases. A baixa expressão da CREBBP acetiltransferase específica e a alta expressão de desacetilases HDAC1 e HDAC7 podem explicar a redução dramática na acetilação global de histonas H3 que observamos nos linfócitos TCD4+ de pacientes com LADA (LIU; XU, 2015). Os resultados são mostrados na figura 13:

Figura 13: Análise das histonas H3 e H4 acetiladas no grupo de pacientes com LADA e grupo controle, onde foram comparados entre o número de pessoas participantes do estudo, a porcentagem da HbA1c, pacientes sem complicações que a alta HbA1c traz e com complicações, e as titulações baixa e alta do autoanticorpo GADA em pacientes com LADA.



Status da acetilação H3/H4 global nos linfócitos TCD4+: (a) Status de acetilação H3/H4 global nos linfócitos TCD4 + de pacientes com LADA (n =28) e controles saudáveis (n = 28), pacientes LADA versus controles saudáveis. (b) Pacientes LADA com HbA1c> 7% (n = 16) versus pacientes com LADA com pacientes HbA1c <7% (n = 12). (c) Pacientes com LADA com complicações (LADAc, n = 17) versus pacientes com LADA sem complicações (LADAnc, n = 11). (d) Alto título de GADA (n = 9) versus baixo título GADA (n = 19). Fonte: (LIU; XU, 2015).

9.2.2 Um estudo mais aprofundado nas populações de células TCD4+ e TCD8+

Em busca de uma diferenciação nas células imunogênicas, um estudo publicado pela *British Society for Immunology*, em 2016, explorou o papel das células T reguladoras (T_{reg}) em pacientes portadores de LADA. As células T_{reg} são um componente importante do sistema imunológico e podem estar envolvidas na autoimunidade. A função supressora do T_{reg} afeta a proliferação e a secreção de

citocinas das células TCD4⁺ e CD8⁺, entre outros tipos de células, e a disfunção do T_{reg} pode levar à imunopatologia. Essas células expressam tipicamente altos níveis da cadeia α do receptor da interleucina IL-2 (CD25) e da proteína 3 do fator de transcrição *forkhead box* (FoxP3), que são necessários para seu desenvolvimento e função e são usados atualmente como marcadores para a caracterização dessas células (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Sendo assim, foi analisado a frequência e o número total de células T CD4⁺CD25⁺, apontando uma diminuição significativa do número total e porcentagem de células TCD4⁺CD25⁺, quando observadas em pacientes com LADA comparados ao grupo controle, enquanto não foram encontradas diferenças na frequência e número de ambas as células TCD4⁺ e CD8⁺ (CD3⁺). Foi demonstrado que a população de T_{regs} sanguíneos periféricos com a maior atividade supressora expressam altos níveis de CD25. Assim, a análise imunofenotípica foi aprofundada para caracterizar mais claramente essas células. Para este fim, a população de TCD4⁺CD25⁺ foi dividida em 2 populações: TCD4⁺CD25^{hi} e TCD4⁺CD25^{int} (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Os resultados encontrados não indicaram uma alteração no volume da população total de TCD4⁺CD25^{hi} em pacientes com LADA. A diminuição observada no total de células TCD4⁺CD25⁺ em pacientes com LADA parece, portanto, ser devida inteiramente a uma diminuição na população de TCD4⁺CD25^{int}. O significado deste achado não é fácil de interpretar, pois pouco se sabe sobre as características e a função das células T periféricas CD4⁺CD25^{int}. No entanto, parece que essa população de células T é heterogênea, provavelmente contendo células T recentemente ativadas, bem como T_{regs} com baixa expressão de CD25 (fenótipo de transição), e ainda mantém a função reguladora detectável (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Pode-se especular que as células TCD4⁺CD25^{int} representam, pelo menos em parte, um estágio inicial de diferenciação das T_{regs} periféricas. Portanto, uma diminuição significativa dessas células pode refletir em um comprometimento relativo da tolerância periférica e, assim, contribuir para o processo autoimune crônico que leva ao comprometimento de células beta em pacientes com LADA (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Para investigar o possível impacto das populações de células TCD4⁺CD25^{hi} e TCD4⁺CD25^{int} na função das células beta, foram realizadas correlações entre essas

populações celulares e níveis de peptídeo-C e glicose (em jejum e com estímulo), bem como com a idade e o IMC. Foi determinado uma correlação positiva dos níveis de células TCD4⁺CD25^{hi} e TCD4⁺CD25^{int}, sugerindo uma interação interessante entre o metabolismo da glicose, função das células beta e alteração específica do braço regulador do sistema imunológico (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

É plausível então, especular sobre a frequência relativa dessas células, que poderiam neutralizar a resposta inflamatória nas ilhotas pancreáticas, contribuindo para manter a secreção de insulina e retardar o processo que leva à deficiência de insulina em pacientes com LADA. Embora, os achados desse estudo sejam significativos, não foi possível demonstrar qualquer correlação particular com outros fenótipos de células T ou com os parâmetros metabólicos que poderiam explicar essa variabilidade individual (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Outros estudos serão necessários para determinar se essas assinaturas de células T podem identificar subgrupos de pacientes com diferentes progressões para insuficiência de células beta, para avaliar se a frequência, fenótipo e função defeituosos de T_{reg} contribuem para a patogênese do LADA e determinar se o fenótipo observado pode representar biomarcadores celulares confiáveis para monitorar a indução da tolerância durante intervenção imunomoduladora em pacientes com LADA (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

Sendo assim, esse estudo permitiu a identificação de uma assinatura específica de células T periféricas e potenciais T_{regs} circulantes em pacientes com LADA que poderiam ser importantes para a compreensão mais clara da patogênese imunológica do diabetes em pacientes com LADA (RADENKOVIC *et al.*, 2016).

9.2.3 Haplótipos e genótipos discrepantes entre LADA e DM1

Este estudo realizado mais uma vez na China, apresenta os haplótipos, alelos que fazem parte do mesmo cromossomo, que caracterizam o sujeito com Diabetes Mellitus 1 e quais os possíveis haplótipos que o diabético LADA pode compartilhar ou diferir. É conhecido que a frequência do diabetes tipo LADA varia com a população étnica global, levando a estudos locais com diferentes apresentações de haplótipos

entre as populações, incluindo a China, onde o número de pacientes com LADA vem aumentando nos últimos anos (LUO *et al.*, 2016).

É bem reconhecido que o antígeno leucocitário humano (HLA) classe II é um importante fator genético para suscetibilidade a DM1. Particularmente, os genótipos e haplótipos HLA-DRB1-DQA1-DQB1 conferem o maior risco para DM1. No entanto, variações significativas em termos dos riscos conferidos pelos genes HLA são observadas em diferentes grupos étnicos, como em chineses e caucasianos. No entanto, se o LADA apresenta características clínicas semelhantes às do DM1, é plausível que os genes HLA também estejam associados à suscetibilidade ao LADA, e estudos prévios demonstraram que a maioria dos haplótipos de HLA associados ao DM1 também confere suscetibilidade ao LADA (LUO *et al.*, 2016).

De acordo com esta observação, três dos seis haplótipos associados ao DM1, de acordo com o conjunto de dados disponível até 2016, também estão associados à susceptibilidade ao LADA. Especificamente, o haplótipo DRB1 * 0901-DQA1 * 03-DQB1 * 0301 também está associado à suscetibilidade ao LADA, enquanto os haplótipos DRB1 * 0405-DQA1 * 03-DQB1 * 0401 e DRB1 * 0301-DQA1 * 05-DQB1 * 0201 conferem suscetibilidade para ambos LADA e DM1 no conjunto de dados disponível em 2016 para este estudo, sugerindo que ambas as doenças compartilham alguns fatores genéticos comuns (LUO *et al.*, 2016).

Em resumo, demonstrou-se que a contribuição da suscetibilidade do HLA-DRB1-DQA1-DQB1 loci para o LADA é significativamente diferente do DM1 e também difere, obviamente, do de pacientes com LADA de origem caucasiana, o que poderia ser útil para a classificação de pacientes asiáticos com LADA. Vale ressaltar que alguns genes de risco para o DM1 fortemente associados com HLA-DRB1-DQA1-DQB1 não confirmam a suscetibilidade ao LADA, mas conferem grande variedade de risco à doença. De acordo com a viabilidade de prever o risco de desenvolver LADA e DM1 com os modelos e genótipos específicos chineses, que também poderiam ser úteis em estudos de prevenção. Coletivamente, essas descobertas devem fornecer uma nova visão sobre a compreensão da patogenia da doença subjacente ao LADA e ao DM1 (LUO *et al.*, 2016).

9.2.4 Perfis de marcadores inflamatórios de baixo grau na diferenciação entre DM1 e LADA

Em 2018, um estudo publicado explorou as concentrações séricas de marcadores inflamatórios de baixo grau no plasma de pacientes diabéticos a fim de determinar alguma diferença evidente entre eles. Foram utilizadas amostras de 597 pacientes, dos quais 73 possuíam diabetes tipo 1, 442 com diabetes tipo 2 e 82 pacientes com LADA (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

Foram selecionados e medidos, biomarcadores observados no contexto de inflamação crônica, obesidade e também resistência à insulina, como: níveis plasmáticos de IL-6 e de proteína C reativa (PCR), que aumentaram na síndrome metabólica; adiponectina, que tem demonstrado estar envolvida na fisiopatologia do diabetes tipo 2, com estudos prospectivos mostrando que níveis mais elevados estão associados a um menor risco de diabetes tipo 2; níveis séricos do receptor TNF-alfa 2 solúvel (sTNFRII), correlacionados com a sensibilidade à insulina, são proporcionais ao percentual de gordura corporal, IMC e triglicérides (TG) em indivíduos saudáveis e no número total de leucócitos, que aumenta a inflamação crônica induzida pela obesidade. Além disso, o sTNFRII foi relacionado recentemente com a ativação de células TCD4 reguladoras (T_{regs}). T_{regs} estão envolvidos na manutenção da falta de resposta imunológica aos autoantígenos e na supressão de respostas imunológicas excessivas deletérias ao hospedeiro (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

Houveram diferenças significativas nas medianas das concentrações séricas de marcadores inflamatórios entre os três tipos de diabetes, exceto para IL-6. Os valores de leucócitos e sTNFRII aumentaram gradualmente do diabetes tipo 1 para o LADA e de LADA para os diabéticos tipo 2. Os níveis de adiponectina seguiram exatamente o padrão oposto e foram mais altos em pacientes com diabetes tipo 1 clássico. Entre os grupos, observou-se que os pacientes com LADA diferenciam-se dos pacientes com diabetes tipo 1 apenas porque possuem níveis significativamente mais elevados de sTNFRII. Além disso, os pacientes com LADA diferenciaram-se também dos pacientes com diabetes tipo 2, onde foram detectados níveis mais elevados de adiponectina, mas níveis mais baixos de PCR-as (Proteína C reativa de alta sensibilidade) e leucócitos totais (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

Um relato prévio feito pela Ação Europeia mostrou que nas coortes de LADA as concentrações de IL-6 e TNF-alfa se correlacionaram positivamente com IMC e circunferência da cintura em pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 e também em pacientes com LADA. O presente estudo corrobora com esses resultados e ainda acrescenta à literatura que, para todos os tipos de diabetes estudados, os marcadores relacionados à adiposidade (IMC, RCQ [relação cintura-quadril] e TG) correlacionaram-se positivamente com os níveis de PCR-as, sTNFRII e contagem de leucócitos, mas foram negativamente correlacionados com a adiponectina. Por outro lado, o HDL-c (HDL-colesterol) seguiu o padrão oposto e correlacionou-se positivamente com a adiponectina, enquanto correlacionou-se negativamente com os marcadores estudados, incluindo a IL-6 (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

Além disso, o modelo logístico múltiplo de LADA versus diabetes tipo 1 mostrou que o aumento do risco de desenvolver LADA está associado com idade avançada e aumento dos níveis de sTNFRII, quando comparado ao DM1. Já as chances de ter LADA é menor quando associado a níveis mais baixos de HDL-c e níveis de PCR-as. Por outro lado, idade avançada, IMC elevado e um número maior de leucócitos totais diminuíram o risco de LADA em comparação ao DM2 (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

Isto é de particular interesse, porque o TNFRII é o receptor primário para as células CD4 T_{regs}, e o mais potente para desencadear a diferenciação de Tregs funcionalmente em repouso para Tregs ativos (aT_{regs}). Foi demonstrado um defeito na ativação de T_{reg} no diabetes tipo 1, e foi relatado que números mais baixos de aTregs foram associados com uma tendência de menor secreção de peptídeo C residual e menor controle glicêmico. Sendo assim, é plausível especular que esse defeito de ativação (número reduzido de aT_{regs}) poderia ser pior em pacientes com diabetes tipo 1 clássico do que em pacientes com LADA e, portanto, ligado a um curso clínico mais grave que requer um início mais precoce do tratamento com insulina (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

Finalmente, os resultados deste estudo sugerem que marcadores inflamatórios de baixo grau, contribuindo independentemente para o risco de um tipo específico de diabetes, não eram ideais como preditores isolados para discriminar pacientes com ou sem LADA. Isso pode ser explicado pelo pequeno tamanho da amostra ou, porque esses biomarcadores podem estar envolvidos em mais de uma via fisiopatológica específica. No entanto, eles forneceram valor agregado quando combinados com

outros marcadores e estabeleceram fatores de risco convencionais (principalmente idade, nível de HDL-c e IMC). Em particular, o sTNFRII foi útil para distinguir o LADA do diabetes tipo 1, podendo esse, ser um novo biomarcador clinicamente relevante para fenotipagem potencial do diabético tipo LADA (CASTELBLANCO *et al.*, 2018).

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diabetes LADA é um subtipo de diabetes, menos comum, e que atinge jovens adultos com a autoimunidade que a caracteriza. O paciente normalmente não apresenta as características físicas que um diabético tipo 2 possui, como por exemplo, alto índice de gordura; e não manifesta a autoimunidade do diabetes tipo 1 desde o começo da vida ou em algum estágio da infância. Por motivos como esses, o diagnóstico torna-se confuso e na grande maioria das vezes, feito erroneamente.

Ao detectar sintomas de diabetes em um paciente, são realizados exames de sangue e urina para detectar se há níveis elevados de glicose, sinal claro de positividade para o diagnóstico da doença. A interpretação dos exames nesse momento é fundamental, pois fornece as informações que possibilita a tipificação do diabetes, evitando que se deixe passar despercebido, o que poderia trazer riscos para a saúde a médio-longo prazo.

Para fazer o diagnóstico correto, realiza-se os testes de glicemia em jejum, curva glicêmica ou teste oral de tolerância a glicose de 2 horas pós prandial e a titulação de autoanticorpos para detectar sua presença. Saber se há positividade de anticorpos vai de encontro com as características clínicas apresentadas pelo paciente, como por exemplo, a idade em que começou a se manifestar os sintomas.

Segundo estudos epidemiológicos, o LADA correspondia em 2016 a 12% de todos os casos de diabetes, com uma incidência de duas a três vezes maior que a Diabetes Mellitus tipo 1, na população mundial. No Brasil, há mais de 13 milhões de pessoas vivendo com diabetes, o que representa 6,9% da população, com crescimento exponencial nos últimos anos. Em alguns casos, o diagnóstico pode ser demorado, favorecendo o aparecimento de complicações, e por isso, se faz importante o aprofundamento no assunto.

A doença acomete principalmente jovens adultos, com a idade do diagnóstico se estabelecendo entre 25 e 35 anos. A fisiopatogenia desse tipo de diabetes é causada tanto por fatores genéticos, tanto quanto por fatores ambientais, ainda não esclarecidos. No núcleo das células ocorre uma alteração epigenética, que aumenta a acetilação das histonas H3 e H4, deixando a cromatina frouxa, permitindo a transcrição do gene acetilado pela redução da afinidade entre histona e DNA.

A doença acontece quando há o reconhecimento de marcadores na superfície de células TCD4+ com antígenos de superfície apresentados na membrana das células beta das ilhotas pancreáticas. Ao reconhecer os antígenos próprios das células beta produtoras de insulina como um corpo estranho, os anticorpos passam a destruí-las, e, portanto, a secreção de insulina é prejudicada, causando a hiperglicemia.

Com o objetivo de rastrear uma nova maneira de diagnosticar esse tipo de diabetes, foram realizadas pesquisas em várias populações do mundo em pacientes portadores de LADA, buscando encontrar um marcador genético que a diferenciasse dos tipos de diabetes mellitus. No entanto, foram encontradas muitas semelhanças entre o DM1 e o LADA e poucas diferenças. Em nível molecular, foram observadas algumas diferenças, que corroboram em prol da compreensão da sua patogênese. Em paralelo, para fins de diagnóstico, os mesmos métodos são empregados para os dois diabetes autoimunes, não permitindo a viabilidade das descobertas feitas a nível molecular para ser empregada no diagnóstico laboratorial, por ter um alto valor agregado e levar muito tempo.

As descobertas acerca da patogenia do LADA estão em processo de aprofundamento, tendo hoje em mãos, estudos sobre proteínas plasmáticas: classificando o metaboloma do LADA como intermediário entre os dois diabetes mellitus; estudos para descoberta de novo autoanticorpo e proteínas, como a GLPD1, diferenciando o LADA e o DM2 no diagnóstico inicial. Estudos sobre populações de células do sistema imunológico: a acetilação de histonas nos linfócitos TCD4+ e sua correlação com fatores analisados laboratorialmente como, hemoglobina glicada, glicose em jejum, peptídeo C, entre outros; subpopulações de linfócitos TCD4+, evidenciando uma concentração de T_{regs} circulantes em LADA que são potenciais marcadores para a compreensão da patogênese imunológica. Haplótipos e genótipos em comum e diferentes entre DM1 e LADA, submetidos a diferenças populacionais, também contribuindo para o aprofundamento na patogênese da doença.

Sendo assim, analisando os estudos relacionados ao LADA, fica evidente a necessidade de aprofundamento para esclarecer ao certo as causas que levam ao desenvolvimento da doença e porquê. No momento, para o diagnóstico, os métodos de análise laboratoriais interpretados juntamente com a avaliação clínica detalhada, promove um diagnóstico assertivo.

REFERÊNCIAS

- ANDRIOLO, Adagmar (Ed.). **Posicionamento Oficial SBD, SBPC-ML, SBEM e FENAD 2017/2018: Atualização Sobre Hemoglobina Glicada (A1c) Para Avaliação Do Controle Glicêmico E Para O Diagnóstico Do Diabetes: Aspectos Clínicos E Laboratoriais.** São Paulo: Direitos Exclusivos da Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia e Federação Nacional das Associações e Entidades de Diabetes., 2017. 36 p. Disponível em: < <http://www.anad.org.br/posicionamento-oficial-sbd-sbpc-ml-sbem-e-fenad-2017-2018/>>. Acesso em: 05 abr. 2018.
- AL-MAJDOUB, Mahmoud et al. Metabolite Profiling of LADA Challenges the View of a Metabolically Distinct Subtype. **Diabetes**, [s.l.], v. 66, n. 4, p.806-814, 2 dez. 2016. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/db16-0779>. Disponível em: <<http://diabetes.diabetesjournals.org/content/66/4/806>>. Acesso em: 11 mai. 2018.
- Associação Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (Org.), Rio de Janeiro. **O que é diabetes?** Disponível em: <<https://www.endocrino.org.br/o-que-e-diabetes/>>. Acesso em: 29 mar. 2018.
- BARBOSA, Júnia H. P.; OLIVEIRA, Suzana L.; SEARA, Luci Tojal e. O Papel dos Produtos Finais da Glicação Avançada (AGEs) no Desencadeamento das Complicações Vasculares do Diabetes. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, Maceió, v. 6, n. 52, p.940-950, 28 mar. 2008. Disponível em: < http://www.aem-sbem.com/media/uploads/7608_ABEM_52_6_pg_940.pdf >. Acesso em: 17 ago. 2018.
- CARVALHEIRA, José Barreto Campello et al. Selective impairment of insulin signalling in the hypothalamus of obese Zucker rats. **Diabetologia**, [s.l.], v. 46, n. 12, p.1629-1640, 1 dez. 2003. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-003-1246-x>. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-003-1246-x>>. Acesso em: 08 ago. 2018.
- CALSOLARI, Maria Regina et al. Diabetes auto-imune latente do adulto ou diabetes melito tipo 2 magro? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s.l.], v. 52, n. 2, p.315-321, mar. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302008000200019>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302008000200019>. Acesso em: 20 mar. 2018.

CASTELBLANCO, Esmeralda et al. Low-grade Inflammatory Marker Profile May Help to Differentiate Patients With LADA, Classic Adult-Onset Type 1 Diabetes, and Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 41, n. 4, p.862-868, 22 jan. 2018. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/dc17-1662>. Disponível em: <<http://care.diabetesjournals.org/content/41/4/862>>. Acesso em: 22 mar. 2018.

CEFALU, William T.. Insulin Resistance: Cellular and Clinical Concepts. **Overview Of Insulin Action**, Vermont, v. 226, p.13-26, 2001. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/153537020122600103>>. Acesso em: 15 mar. 2018.

COSTANZO, Linda S.. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

FLEURY MEDICINA E SAÚDE. Cálculo do índice HOMA-IR ajuda a determinar o grau de resistência à insulina. **Revista Médica**, São Paulo, v. 2006, n. 3, p.1-1, 01 abr. 2006. Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revista-medica/materias/Pages/calculo-homa-ir-grau-de-resistencia-insulinica.aspx>>. Acesso em: 08 ago. 2018.

GABBAY, Monica; CESARINI, Paulo R.; DIB, Sergio A.. Diabetes melito do tipo 2 na infância e adolescência: revisão da literatura. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 3, p.201-208, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/jped/v79n3/v79n3a04.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

GROSS, Jorge L. et al. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, Port Alegre, Rs, v. 46, n. 1, p.16-26, fev. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v46n1/a04v46n1.pdf>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John E.. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Mississipi: Elsevier, 2006. cap 78, 1128 p.

ISOMAA, Bo et al. Chronic complications in patients with slowly progressing autoimmune type 1 diabetes (LADA). **Diabetes care**, v. 22, n. 8, p. 1347-1353, 1999.

Disponível em: < <http://care.diabetesjournals.org/content/22/8/1347.short>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

LIU, Xi-yu; XU, Jiang-feng. Reduced Histone H3 Acetylation in CD4+T Lymphocytes: Potential Mechanism of Latent Autoimmune Diabetes in Adults. **Disease Markers**, [s.l.], v. 2015, p.1-7, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/285125>. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/dm/2015/285125/abs/>>. Acesso em: 02 abr. 2018.

LUO, Shuoming et al. HLA Genetic Discrepancy Between Latent Autoimmune Diabetes in Adults and Type 1 Diabetes: LADA China Study No. 6. **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 101, n. 4, p.1693-1700, abr. 2016. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-3771>. Disponível em: < <https://academic.oup.com/jcem/article/101/4/1693/2804552>>. Acesso em: 08 ago. 2018.

MONTANHER, Ana Paula; BODA, Máira; RIBEIRO NETO, Luciane M.. **Epigenética – Alterações Induzidas Por Agentes Químicos**. 2015. 4 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, III Simpósio de Assistência Farmacêutica, Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://ptdocz.com/doc/1050184/epigenetica-%E2%80%93altera%C3%A7%C3%B5es-induzidas-por-agentes>>. Acesso em: 05 mar. 2018.

OLIVEIRA, Ernesto Pereira de; SOUZA, Mirabeau Levi Alves de; LIMA, Maria das Dores Acioli de. Índice HOMA (homeostasis model assessment) na prática clínica: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Bahia, v. 41, n. 4, p.237-243, ago. 2005. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/%0D/jbpml/v41n4/a04v41n4.pdf>>. Acesso em: 04 jul. 2018.

QIN, Wen et al. The Clinical Significance of Glycoprotein Phospholipase D Levels in Distinguishing Early Stage Latent Autoimmune Diabetes in Adults and Type 2 Diabetes. **Plos One**, [s.l.], v. 11, n. 6, p.1-15, 28 jun. 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0156959>. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0156959>>. Acesso em: 01 abr. 2018.

QUEIROZ, Jean César Farias de et al. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s.l.], v. 53, n. 5,

p.582-594, jul. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302009000500011>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302009000500011&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 05 ago. 2018.

RADENKOVIC, M. et al. Altered regulatory T cell phenotype in latent autoimmune diabetes of the adults (LADA). **Clinical & Experimental Immunology**, [s.l.], v. 186, n. 1, p.46-56, 24 ago. 2016. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/cei.12834>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27357431>>. Acesso em: 10 abr. 2018.

ROCHA, Fabíola D. et al. Diabetes mellitus e estresse oxidativo: produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. **Revista Brasileira de Farmácia**, Passo Fundo, v. 87, n. 2, p.49-54, 20 maio 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302008000700005>. Acesso em: 22 abr. 2018.

RODACKI, Melanie; MILECH, Adolpho; OLIVEIRA, José Egídio Paulo de. A secreção residual do peptídeo C faz diferença no tratamento do diabetes melito tipo 1?:[revisão]. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 52, n. 2, p. 322-333, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v52n2/20.pdf>>. Acesso em: 07 ago. 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (São Paulo) (Org.). **O que é diabetes**. 2017. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/oque-e-diabetes>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

SZEPIETOWSKA, Barbara et al. Endocrine Autoimmunity in Patients With Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) - Association With HLA Genotype. **Endokrynologia Polska**, [s.l.], v. 67, n. 2, p.197-201, 13 abr. 2016. VM Media SP. zo.o VM Group SK. <http://dx.doi.org/10.5603/ep.a2016.0017>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26884287>>. Acesso em: 05 jul. 2018.

TANG, Qi et al. Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening: Developments in research and prospects for the future. **Drug Discoveries & Therapeutics**, [s.l.], v. 9, n. 6, p.380-385, 2015. International Research and Cooperation Association for Bio & Socio-Sciences Advancement (IRCA-BSSA). <http://dx.doi.org/10.5582/ddt.2015.01207>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26781921>>. Acesso em: 07 ago. 2018.

WHITE, Morris F.; KAHN, C. Ronald. The insulin signaling system. **J Biol Chem**, v. 269, n. 1, 1994. Disponível em: < <http://www.jbc.org/content/269/1/1.long>>. Acesso em: 05 jul. 2018.

ZIMMET, P. The pathogenesis and prevention of diabetes in adults: Genes, autoimmunity and demography. Based on the Eli Lilly Lecture at the 15th International Diabetes Federation Congress, Kobe, Japan – November 1994. **Practical Diabetes International**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.7-8, jan. 1995. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pdi.1960120105>. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pdi.1960120105>>. Acesso em: 02 mai. 2018.