

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso Biomedicina

Anícia da Conceição Semedo Moreno

MARCADORES IMUNOLÓGICOS EM DIABETES MELLITUS DO TIPO 1:

UMA REVISÃO DE LITERATURA

São Paulo

2018

Anícia da Conceição Semedo Moreno

MARCADORES IMUNOLÓGICOS EM DIABETES MELLITUS DO TIPO 1:
UMA REVISÃO DE LITERATURA

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

São Paulo

2018

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Radrizzani

Moreno, Anícia da Conceição Semedo

Marcadores imunológicos em diabetes mellitus do tipo 1: uma revisão de literatura / Anícia da Conceição Semedo Moreno. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2018.

53 p.

Orientação de Sandra Castro Poppe

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

1. Biomarcadores 2. Cetoacidose diabética 3. Diabetes Mellitus tipo 1
4. Diagnóstico precoce 5. Hiperglicemia I. Poppe, Sandra Castro II. Centro
Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.462

Anícia da Conceição Semedo Moreno

**MARCADORES IMUNOLÓGICOS EM DIABETES MELLITUS DO TIPO 1:
UMA REVISÃO DE LITERATURA**

São Paulo, 2018

Professora Orientadora: Prof. Dra. Sandra Castro Poppe

Professor examinador interno: Prof. Dr. Eduardo Fernandes Bondan

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha Avó Eugénia Pereira
Miranda e minha Mãe Catarina da Conceição
Miranda Semedo. Mulheres que me inspiram!

Agradecimento

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela vida e sabedoria, agradeço pela oportunidade a mim concedida, por me permitir realizar um dos maiores sonhos da minha vida, realmente eu sou a pessoa mais sortuda do mundo. Obrigada por todos os momentos bons e menos bons que hoje me transformaram como pessoa.

Agradeço a todos os que me acolheram no Brasil, meu colegas de turma, meus Professores e mestres de profissão, amigos de Cabo Verde, todos que de uma forma ou de outra me ajudaram no processo de adaptação, que não foi nada fácil nos primeiros anos. Um especial obrigado ao Padre Assis e Elson, palavras não conseguem expressar a tamanha gratidão. À minha orientadora pela confiança depositada em mim e por me ajudar durante a execução deste trabalho.

Aos meus colegas a qual dividimos não somente um apartamento, mas uma história que perdurou por 4 longos anos, um muitíssimo obrigado. Vocês foram a família que eu escolhi e levarei comigo pra sempre.

Aos meus padrinhos, minha madrinha por todo apoio, pelos conselhos e incentivos. Em especial à minha madrinha Joana (in memória) que sempre me apoiava na minha caminhada acadêmica. Obrigada do fundo do meu coração.

Agradeço, também à toda minha família (tias, tios, primos, avó, avô) em especial meu primos que mesmo longe eu sabia que podia contar, obrigada por vibrarem comigo quando era necessário, obrigada pelas palavras e pelos silêncios, por me permitir compartilhar momentos bons e menos bons. Vocês me mantiveram de pé

À equipe Hermes Pardini pelo acolhimento no campo de estágio onde pude colocar em prática os meus conhecimentos. Obrigada pela confiança em mim depositada.

Ao Gelson Andrade por todo apoio e por acreditar em mim mesmo quando eu não acreditava. Obrigada meu amor!

Um muitíssimo obrigado à minha mãe Catarina Miranda Semedo, o meu maior e único motivo pelo qual eu lutava todos os dias, se não fosse por você, eu não chegaria até aonde estou hoje. A conquista é minha mas o mérito é todo seu. Por último, agradeço a todos que de uma forma ou outra me ajudaram durante toda a minha caminhada acadêmica.

Se lembrar pelo que está lutando, nunca vais
errar o alvo (Once upon a time)

MORENO, Anícia da C. Semedo. **Marcadores imunológicos em diabetes mellitus do tipo 1: uma revisão de literatura.** 2018. 52 f. TCC (Graduação) – Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2018.

Diabetes mellitus é uma doença metabólica crônica, caracterizada pela deficiência, ausência ou resistência na produção de insulina, tendo como principal característica a hiperglicemia pós-prandial. Os sintomas típicos são poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso. Pode ser dividida em DM1, DM2, diabetes gestacional e outros tipos. O DM1 divide-se em DM1A e DM1B. É considerada como epidemia pela OMS. A estimativa da prevalência mundial está em torno de 1,2% e 4% e no Brasil de 7,6%. Em 2015 o Brasil estava entre os dez primeiros países com mais casos de diabetes a nível mundial, com 14,3 milhões de casos, sendo que a perspectiva para 2040 é de aumentar para 23,3 milhões. O diabético ao longo do tempo está mais propenso a desenvolver doenças cardiovasculares coronarianas, nefropatia, retinopatia, hipertensão arterial e neuropatia diabética com consequente amputação de membros, sendo estes a principal causa de morte. O sedentarismo e a má alimentação, constituem as maiores causas de DM2. Na DM1 existe uma influência genética associada aos genes do HLA, bem como fatores ambientais relacionados a infecções por vírus, introdução precoce do leite de vaca, etc. A DM1 é de carácter autoimune na qual o uso da insulina exógena é obrigatório. Inicia-se devido a um desequilíbrio nos mecanismos de tolerância ao antígeno, envolvendo mecanismos de imunidade celular, caracterizada por insulite e imunidade humoral com presença de anticorpos específicos. Os principais anticorpos encontrados são anti-GAD65, anti-IAA, anti-ZNT8, anti-IA2. Eles vêm sendo implementados no diagnóstico de DM1A uma vez que podem ser evidenciados ainda na fase pré-clínica, ou seja, antes da manifestação da doença. Normalmente, pacientes com DM1 têm anticorpos dirigidos contra diferentes antígenos das células β pancreáticas. Além disso, indivíduos não diabéticos com os presentes marcadores evoluíram para diabetes manifesto no período de 15 anos. O diagnóstico precoce auxilia, não só na correta classificação de DM, bem como na escolha do tratamento adequado e específico, prevenindo a cetoacidose diabética.

Palavras chaves: Biomarcadores. Cetoacidose diabética. Diabetes Mellitus tipo 1. Diagnóstico precoce. Hiperglicemia.

MORENO, Anícia da C. Semedo. **Marcadores imunológicos em diabetes mellitus tipo 1: uma revisão de literatura.** 2018. 52 f. TCC (Graduação) – Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2018.

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease characterized by deficiency, absence or resistance in insulin production, with postprandial hyperglycemia as main characteristic. The typical symptoms are polyuria, polydipsia, polyphagia and weight loss. It can be divided into DM1, DM2, gestational diabetes and other types. DM1 is divided into DM1A and DM1B. It is considered an epidemic by OMS. The worldwide prevalence is estimated around 1.2% and 4% and in Brazil, 7.6%. By 2015, Brazil was among the top ten countries with the highest number of diabetes cases worldwide, with 14.3 million cases, with the outlook for 2040 increasing to 23.3 million. The diabetic over time is more likely to develop coronary heart disease, nephropathy, retinopathy, hypertension and diabetic neuropathy with consequent amputation of limbs, which are the main cause of death. Sedentary lifestyle and poor diet are the major causes of DM2. In DM1 there is a genetic influence associated with HLA genes, as well as environmental factors related to virus infections, early introduction of cow's milk, etc. DM1 is autoimmune in which the use of exogenous insulin is mandatory. It is initiated due to an imbalance in mechanisms of antigen tolerance, involving mechanisms of cellular immunity, characterized by insulinitis and humoral immunity with the presence of specific antibodies. The major antibodies found are anti-GAD65, anti-IAA, anti-ZNT8, anti-IA2. They have been implemented in the diagnosis of DM1A since they can be evidenced even in the pre-clinical phase, that is, before the manifestation of the disease. Typically, patients with DM1 have antibodies directed against different pancreatic β -cell antigens. In addition, non-diabetic individuals with the present markers evolved to manifest diabetes within 15 years. Early diagnosis helps not only the correct classification of DM, but also the choice of appropriate and specific treatment to prevent diabetic ketoacidosis.

Palavras chaves: Biomarcadores. Cetoacidose diabética. Diabetes Mellitus tipo 1. Diagnóstico precoce. Hiperglicemia.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura do pâncreas.....	19
FIGURA 2 – Sistema do ácino pancreático	20
FIGURA 3 – Fotomicrografia das ilhotas pancreáticas	21
FIGURA 4 – Transporte de glicose e sinalização de insulina	22
FIGURA 5 – Desajustes metabólicos decorrentes da falta de insulina	25
FIGURA 6 – Estrutura de MHC I	28
FIGURA 7 – Estrutura de MHC II	28
FIGURA 8 – Relação entre HhA1c e o risco de complicações microvasculares	31
FIGURA 9 – Frequência dos anticorpos detectado ao longo dos anos.....	34
FIGURA 10 – Ação da enzima GAD nas células- β pancreáticas	36
FIGURA 11 – Vacinação anti-GAD e antagonistas IL-1	37
FIGURA 12 – Níveis de anticorpos GAD65 em diferentes grupos de estudos.....	38
FIGURA 13 – Estrutura do ZNT8 e o seu transporte na célula	39
FIGURA 14 – Síntese de insulina	40
FIGURA 15 – ZNT8 e reconhecimento de epítipo	41
FIGURA 16 – Combinação dos autoanticorpos em paciente com DM1A	42
FIGURA 17 – Positividade do diagnóstico de DM1A quando o ZNT8 é adicionado	42

LISTA DE QUADRO E TABELA

TABELA 1 – Valores de referência TOTG.....	30
TABELA 2 – Valores de referência glicemia em jejum	33
QUADRO 1 – Sensibilidade e especificidade dos autoanticorpos para o diagnóstico	34

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA – American Diabetes Association

AGES – Produtos finais de glicação avançada

APC – Células apresentadoras de antígenos

CTLA - Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4

DM – Diabetes mellitus

GAD – Descarboxilase do ácido glutâmico

GLUT – Transportador de glicose

GLT-1 – Transportador de glutamato

Hb1Ac – Hemoglobina glicada

HLA – Antígeno leucocitário humano

IAA – Anticorpo contra insulina

IA-2 – Anticorpo contra tirosina fosfatase

IFN- γ – Interferon gama

IL – Interleucina

IRS - Substrato de receptor de insulina

LADA – Latent Autoimmune Diabetes of the Adult

NK – Natural Killer

OMS – Organização Mundial da Saúde

PI3K – Fosfatidil inositol 3 quinase

PLP – Pyridoxal fosfato

PTPN – Proteína tirosina fosfatase

SLMV – Synaptic like-micovesicles

TOTG – Teste oral de tolerância a glicose

Treg – Células T reguladoras

TCR – Receptor de células T

ZNT8 – Transportador de zinco 8

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	17
3 METODOLOGIA.....	18
4 DESENVOLVIMENTO	19
4.1 Pâncreas endócrino	19
4.2 Fisiopatologia	21
4.3 Características clínicas.....	24
4.4 Fatores desencadeantes	25
4.4.1 Fatores genéticos.....	25
4.4.2 Fatores ambientais.....	28
4.5 Diagnóstico.....	29
4.5.1 Teste oral de tolerância a glicose.....	29
4.5.2 Hemoglobina glicada.....	30
4.5.2.1 A hemoglobina glicada no rastreio de DM e suas limitações	32
4.5.3 Glicemia em jejum.....	32
5 MARCADORES HUMORAIS NO DIAGNÓSTICO DE DM1A	33
5.1 Anti IA-2	34
5.2 Anti GAD65	35
5.2.1 A enzima GAD e células- β pancreáticas	35
5.2.2 Imunoterapia com GAD-alum	36
5.3 Anti IAA	38
5.4 Anti ZNT8	39
5.4.1 Expressão do ZNT8 em tecidos e reconhecimento de epítomos	40
5.4.2 Relatos na literatura	41
6 TRATAMENTO.....	43
7 CONCLUSÃO.....	45

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	46
-------------------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica caracterizada pela deficiência, ausência ou resistência na produção de insulina, levando um aumento de glicose no sangue acima da taxa normal. A hiperglicemia crônica é a sua principal característica, acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial (MARCELINO; CARVALHO, 2005).

Os principais sintomas que levam à suspeita diagnóstica são: poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013). Além disso, paciente diabético pode apresentar outros sintomas, tais como sonolência, dores generalizadas, formigamentos, dificuldade de raciocinar, fraqueza, visão dupla, entre outros (LUCENA, 2007).

A DM é uma doença prevalente, classificada como epidemia pela Organização Mundial de Saúde (OMS). A estimativa da prevalência mundial está em torno de 1,2% e 4% e, no Brasil, em 7,6% na última avaliação, sem distinção de sexo (MARASCHIN et al., 2010). Constitui a terceira causa de morte em países industrializados, depois das doenças cardiovasculares e câncer (FACCINETTI, et al., 2016), é a principal causa de amputação de membros, cegueira e insuficiência renal crônica (KUMAR et al., 2008).

Segundo Palmeira e Pinto (2015) sua incidência vem aumentando nos países em desenvolvimento, tanto em adultos quanto em adolescente, sendo que a maior taxa de incidência é na Finlândia e Sardenha e com menor taxa em alguns países da América do sul e Ásia. No ano 2000, no total de dez países, o Brasil estava classificado em oitavo lugar, com 4,6 milhões de casos. A estimativa para 2030 tende a piorar, constituindo assim, uma doença importante de saúde pública (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008).

A OMS estima que DM foi responsável por 1,5 milhões de mortes em 2012. De acordo com a literatura, os gastos globais com diabetes foi de 376 bilhões de dólares americanos em 2010, representando 12% das despesas em saúde e com projeção de chegar a 490 bilhões em 2030 (MALTA et al., 2017).

Na população americana cerca de 10% da população tinha diabetes em 2015, dos quais 7 milhões de pessoas não foram diagnosticadas. Com o aumento da idade a

prevalência também aumenta, afetando em maior quantidade pessoas acima de 65 anos de idade (GOYAL; JIALAL, 2018).

Hoje, no Brasil, há mais de 13 milhões de pessoas vivendo com diabetes, o que representa 6,9% da população. A expectativa para 2040 deve aumentar para 23,3 milhões de pessoas. Esses números vêm crescendo, devido à urbanização e aos estilos de vida pouco saudáveis, como sedentarismo e má alimentação, que resultam em alterações metabólicas e excesso de peso (MALTA et al., 2017). Em alguns casos, o diagnóstico demora, favorecendo o aparecimento de complicações (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Com o objetivo de chegar a um diagnóstico mais adequado e precoce, reduzindo as complicações microvasculares, a *American Diabetes Association* (ADA) e OMS classificaram DM em 4 grupos: DM tipo 1 (DM1), DM tipo 2 (DM2), outros tipos de diabetes e diabetes gestacional (MARASCHIN et al., 2010).

A DM1 corresponde cerca de 5% a 10% de todos os casos de diabetes, inicia-se antes dos 30 anos de idade, podendo atingir indivíduos de todas as faixas etárias. É dividido em tipo 1A (DM1A), 1B (DM1B) e *Latent autoimmune Diabetes of the Adult* (LADA) (MARASCHIN et al., 2010). A DM1 inicia-se devido um desequilíbrio nos mecanismos de tolerância aos antígenos próprios, provocando um infiltrado inflamatório nas ilhotas pancreáticas composto de linfócito T e B, células dendríticas, macrófagos, processo denominado de insulite (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008). As células T-CD4 ativadas (CD4+) secretam citocinas, como a interleucina 1 (IL-1), interferon γ (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), provocando a morte das células- β , contribuindo para uma resposta mais celular. Estas células também funcionam como células ativadoras das células T-CD8 e linfócitos B, produtores de auto anticorpos e isso está relacionado com a imunidade humoral. O grau de destruição das células- β é variável e intenso tendo a necessidade precoce e permanente do tratamento com insulina, prevenindo a cetoacidose diabética (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008).

A DM1A compreende 90% dos casos de diabetes da infância e 5% a 10% na idade adulta e cerca de 40% ocorrem até os 20 anos de idade. Acontece devido a uma desordem poligênica mediada pelos genes de histocompatibilidade (HLA). A DM1B

pode ser bastante heterogêneo, incluindo defeitos na secreção de insulina causados por intensa destruição das células- β do pâncreas ou disfunção da mesma (WITT et al., 2011).

Segundo Maraschini et al (2010) na DM LADA existe destruição autoimune, porém ela é muito mais lenta e acomete indivíduos mais velhos. Caracterizado por longo período prodrômico, necessitando de insulina pelo menos seis meses após o diagnóstico, podendo ser confundida muitas vezes com DM2.

Por outro lado, a DM2 é responsável por mais de 90% dos casos de DM, sem característica autoimune. Acomete geralmente indivíduos mais velhos com história familiar positiva, podendo ser observadas em crianças devido à obesidade e sedentarismo infantil. As principais causas deste tipo de diabetes são má qualidade de vida, obesidade, sedentarismo e o tratamento envolve hipoglicemiantes orais (MARASCHIN et al., 2010).

Os principais testes diagnósticos para a identificação no distúrbio e no metabolismo da glicose são glicemia em jejum e teste de tolerância a glicose. Além disso têm se avaliado a prevalência de alguns anticorpos, principalmente em diabetes DM1A. Os anticorpos não estão diretamente relacionadas à morte das células- β , no entanto, podem ser usados como marcadores de destruição destas células, refletindo assim, a severidade da doença (WITT et al., 2011).

Estes auto anticorpos podem ser evidenciados no período de autoimunidade ativa, conhecido como pré-diabético ou fase subclínica, podendo ter duração de vários anos (SILVA; MORY; DAVINI, 2008). Em 1974 foi demonstrada a presença de anticorpos contra ilhotas de Langerhans (anti-ICA). Em seguida identificou-se vários outros anticorpos como: anti-insulina (anti-IAA), anti-decarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD), a isoforma 8 do transportador de zinco (ZnT8) e o anti proteína de membrana com homologia às tirosinofosfatases ou anti-antígeno 2 do insulinoma (anti-IA2) (MARASCHIN et al., 2010).

ICA são considerados bons marcadores de DM1 com sensibilidade variando entre 70% a 90%. São anticorpos da classe IgG e sua reação acontece contra todos os componentes da ilhota pancreática (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008). GAD é uma enzima catalisadora do ácido gama-amino.-butírico (GABA), a partir do L-glutamato.

Este marcador mantém a sensibilidade de 70% a 80% para o diagnóstico de diabetes autoimune, independente da idade. São mais frequentes em adultos com diabetes tipo LADA (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008). O ICA juntamente com o GAD estão intimamente relacionados ao desenvolvimento de DM1. Por outro lado anti- IAA está presente em 50% dos pacientes com DM1, e está associado à queda da função da célula e a sua presença indica a necessidade de uso de insulina (WITT et al., 2011). O anticorpo anti-IA2 é mais comum entre indivíduos jovens (até 15 anos) e indica rápida progressão da doença. No ano de 2007 foi descrito um novo marcador, a ZnT8 específico da célula- β . Cerca de 14% a 20% dos DM1 negativo para anticorpos tradicionais são positivos para ZnT8, sendo a sua expressão quase que exclusivo às células- β pancreáticas (FACCINETTI et al, 2016).

Segundo Salas P., et al. (2012) a determinação do anticorpo ZNT8 tem demonstrado uma frequência alta em pacientes com DM1 podendo ser considerado como um marcador adicional em pesquisas e progressão da doença. A determinação dos anticorpos anti-ZnT8 junto com os outros marcadores clássicos como o GAD e IA-2 devem aumentar a sensibilidade no diagnóstico de DM1.

2 OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo principal uma revisão bibliográfica dos principais marcadores autoimune em DM1A, discutir a importância do uso destes marcadores no diagnóstico precoce de DM1.

3 METODOLOGIA

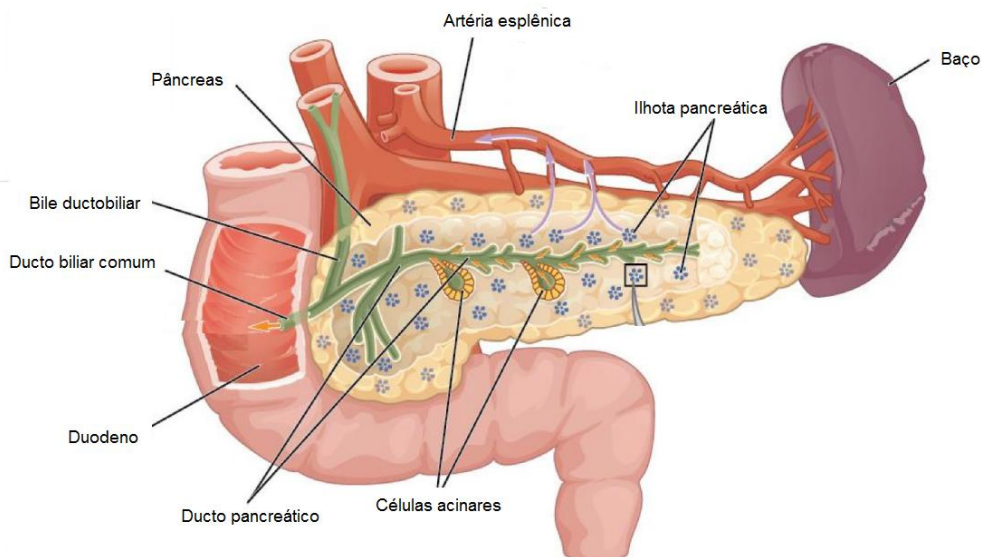
Foi realizada uma pesquisa bibliográfica, descritiva, com abordagem quantitativa dos dados. A mesma foi feita por meio de livros encontrados no acervo da Biblioteca Padre Inocente Radrizzani do Centro Universitário São Camilo, Pubmed, Google Acadêmico e revista eletrônica Scielo, BVS (biblioteca virtual em saúde), utilizando o descritor em Ciências da Saúde DECs, a fim de selecionar as palavras-chave (biomarcadores; cetoacidose diabética; diabetes mellitus tipo 1; diagnóstico precoce; hiperglicemia) em artigos nos idiomas português, inglês e espanhol, entre os anos de 2005 a 2018 e o operador booleano “AND” nos descritores de assunto.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Pâncreas endócrino

O pâncreas é uma glândula mista formada por uma parte endócrina e exócrina. A sua formação ocorre entre a quarta e a sétima semana do período embrionário, a partir do brotamento dorsal e ventral do intestino primitivo. Os brotamentos se unem originando um sistema de túbulos e ácinos que originam posteriormente a porção endócrina e exócrina deste órgão. Ele apresenta uma cabeça localizada na região central cruzando a linha média do corpo e a cauda que se estende na direção do hilo do baço, conforme a figura 1 (AIRES, 2015).

Figura 1 – Estrutura do pâncreas



Fonte: Adaptado de (MONTENEGRO; CHAVES; FERNANDES, 2016)

A porção exócrina do pâncreas é constituída por glândulas acinosas formadas por células piramidais com uma superfície apical livre e estreita e uma superfície basal ampla. Os ácinos pancreáticos são responsáveis pela produção de enzimas digestivas. Nele se encontra o ducto intercalar, as células centroacinosas pavimentosas, que constituem o início do sistema ductal do pâncreas, e as células acinosas contendo grânulos de zimogênio acidofílicos (figura 2). Além disso, a porção exócrina é responsável pela produção do componente aquoso alcalino que neutraliza o ácido proveniente do estômago (ROSS; PAWLINA, 2017).

Figura 2 – Sistema do ácino pancreático

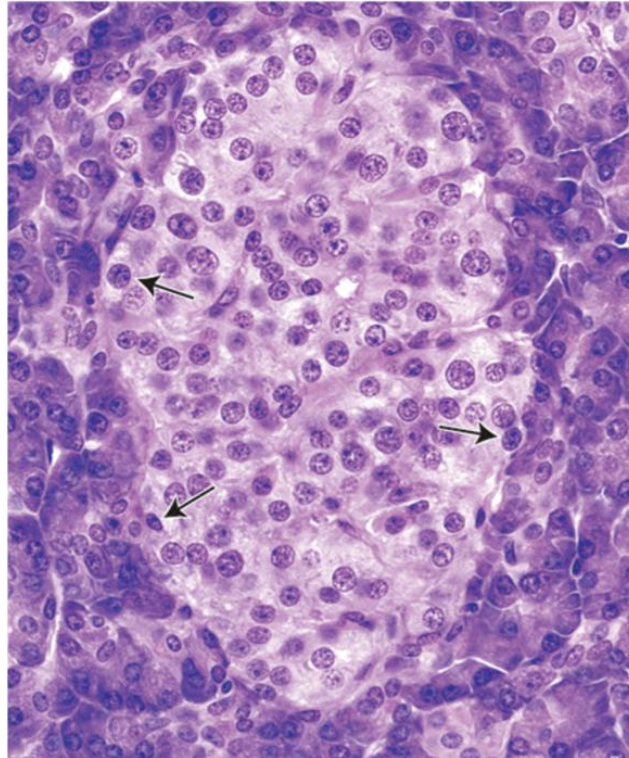


Fonte: (ROSS; PAWLINA, 2017).

Entretanto, a porção endócrina é responsável pela produção de hormônios que serão lançados na corrente sanguínea. São constituídas por células poligonais, dispostos em cordões irregulares e curtos, denominadas ilhotas de Langerhans ou ilhotas pancreáticas. Estas ilhotas comportam células A (alfa) produtoras de glucagon, células B (beta) que produzem e secretam insulina, representa cerca de 60% do número total de células, as células D (delta) secretam somatostatina e as células PP produtoras de polipeptídeo pancreático que ocupam 5% da massa total. As ilhotas pancreáticas são ricamente inervadas por fibras do sistema nervoso simpático e parassimpático, bem como mediadores químicos, como norepinefrina, GABA, acetilcolina e peptídeo intestinal vasoativo. O suprimento sanguíneo arterial provém das artérias esplênicas e pancreaticoduodenais superior e inferior (MONTENEGRO; CHAVES; FERNANDES, 2016; ROSS; PAWLINA, 2017).

É importante salientar que alteração na porção endócrina do pâncreas resulta num desequilíbrio metabólico e surgimento de doenças como DM, obesidade, síndrome metabólica, entre outros (AIRES, 2015).

Figura 3 – Fotomicrografia das ilhotas pancreáticas



Pode-se verificar as células A (seta) na periferia.

Fonte: (ROSS; PAWLINA, 2017)

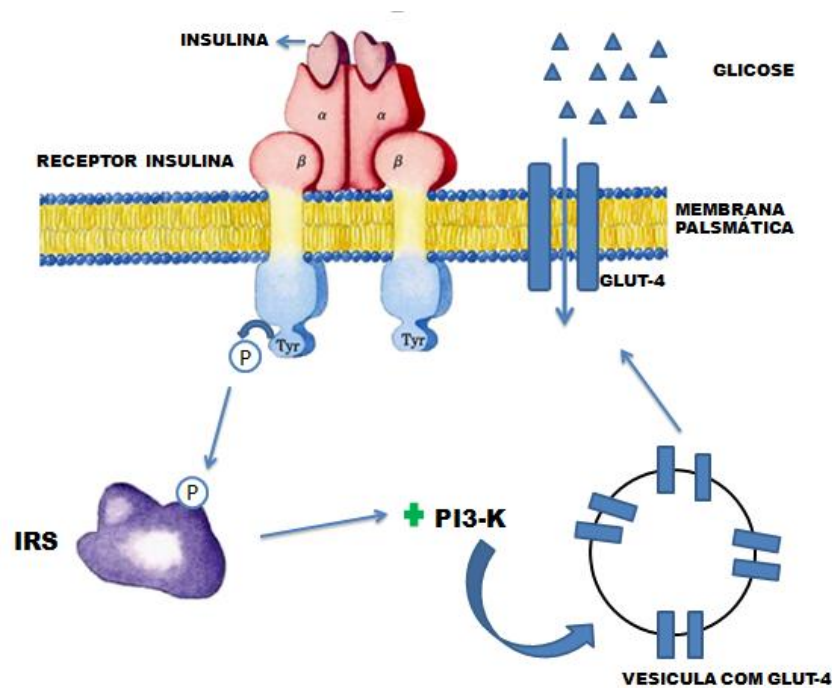
4.2 Fisiopatologia

A DM é um grupo de desordens metabólicas tendo como principal característica a hiperglicemia pós-prandial, devido a uma menor sensibilidade insulínica em seus tecidos alvos e/ou por redução na sua secreção (ARSA et al., 2008). A hiperglicemia está diretamente relacionada a falência de órgãos, em especial os rins, coração, vasos sanguíneos, olhos, além de outras complicações crônicas, como amputação de membros (VOLTARELLI et al., 2008).

Normalmente, após uma refeição ocorre secreção de insulina pelas células- β pancreáticas, fazendo com que diminua os níveis circulantes de aminoácidos e ácidos graxos livres. Além disso a insulina capta glicose proveniente da alimentação, fazendo com que diminua os seus níveis circulantes. Esta captação só acontece devido às reações enzimáticas que ocorrem na presença da insulina (ARSA et al., 2008)

O receptor da insulina é um receptor transmembranar que possui uma subunidade localizada na parte externa da célula (subunidade α) e uma localizada no citoplasma (subunidade β). A subunidade α possui o sítio de ligação para a insulina, enquanto a β é responsável pela transmissão de sinais e fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS), que por sua vez ativa a fosfatidilinositol 3 quinase (PI 3-K), permitindo a translocação do transportador de glicose (GLUT-4) para a superfície da membrana celular e conseqüentemente a captação da glicose, conforme a figura 4 (ARSA et al., 2008).

Figura 4 – Transporte de glicose e sinalização de insulina



FONTE (O autor, 2018)

Em indivíduos portadores de diabetes a captação da glicose fica prejudicada, devido à uma resistência insulínica (DM2) ou dificuldade na sua secreção (DM1). Em DM2 esta resistência leva à uma hiperinsulinemia compensatória (VOLTARELLI et al., 2008), impossibilitando o desencadeamento de respostas enzimáticas responsáveis pela fosforilação da tirosina quinase para IRS-1 e IRS-2. Esses substratos fosforilam PI 3-K, envolvidas na síntese e translocação do GLUT4 para a membrana plasmática e na geração do estímulo para a produção de óxido nítrico nas células endoteliais. Deste

modo, a translocação do GLUT fica prejudicada, tendo como consequência a hiperglicemia crônica, acompanhada de excesso de ácidos graxos livres circulantes no sistema portal. Assim, aumenta o risco de formação de placas de ateromas, disfunção endotelial, etc. Do mesmo modo, a diminuição no estímulo para produção do óxido nítrico faz com que aumente a atividade da angiotensina II levando à vasoconstrição e redução na contratilidade vascular, bem como nefropatia, retinopatia, neuropatia e hipertensão arterial (ARSA et al., 2008).

Na DM1 ocorre destruição autoimune das células β do pâncreas envolvendo mecanismos autoimunes mediadas por linfócitos TCD4+ e TCD8+, células *natural killer* (NK), macrófagos e células dendríticas, responsáveis pela geração da resposta autoimune (VOLTARELLI, et al., 2008). Como a maioria das doenças autoimunes, DM1 ocorre devido um desequilíbrio entre as células T efectoras e T reguladoras (Treg), levando a uma perda na tolerância central e periférica. Na tolerância central ocorre destruição das células T autorreativas no timo por apoptose, porém, células T efectoras potencialmente nocivas podem ser geradas. Estas células não desencadeiam doenças autoimunes, pois a células Treg as suprimem. Entretanto, existem pessoas que apresentam um defeito nas células T reguladoras, tendo como consequência o aparecimento das doenças autoimunes, como acontece em DM1 (NUNES; DE CORDOVA, 2017).

A patogênese da DM1 não está totalmente clara, mas se sabe que envolve mecanismo de imunidade celular e humoral devido um defeito na imunoregulação. A imunidade celular é responsável pelo processo de insulite, que corresponde ao infiltrado mononuclear nas células- β pancreáticas (NEVES et al., 2017). Isto acontece devido uma agressão mediada por células T autorreativas, macrófagos, NK e células dendríticas. Os macrófagos e as células dendríticas apresentam antígenos específicos das células- β para os linfócitos TCD4+ e TCD8+ iniciando o processo de auto destruição. Durante esse processo os linfócitos TCD8+ liberam perforinas e granzimas que destroem as células- β por um mecanismo denominado de citólise (SESTERNHEIM; SAITOVITCH; STAUB, 2007).

Os linfócitos T quando ativados secretam citocinas de perfil Th1 como a IL-2 e IFN- γ , induzindo um resposta mais celular, caracterizado por infiltrado rico em neutrófilos, linfócitos e macrófagos. Existe também a resposta Th2 predominando as

citocinas como IL-4, IL-6 e IL-10, levando à uma resposta mais humoral e consequentemente a produção de anticorpos pelos linfócitos B, o que denominamos de imunidade humoral (NUNES; DE CORDOVA, 2017). Neste caso ocorre a produção de autoanticorpos que infiltram nas ilhotas pancreáticas destruindo as células- β , podendo ser diagnosticados ainda na fase pré-clínica. Estes autoanticorpos são usados como marcadores para o diagnóstico do DM1 e são eles anti-GAD, anti-ZNT8, anti-IA2, anti-ICA, anti-IAA. Com o passar dos anos a intensidade da lesão vai aumentando, diminuindo a quantidade das células- β e promovendo a necessidade do uso contínuo da insulina (NEVES et al., 2017).

4.3 Características clínicas

Nos primeiros dois anos após o diagnóstico de DM1, a necessidade de insulina é mínima, pois ainda existem 30% de células- β viáveis. Após esse período a necessidade de insulina começa a aumentar drasticamente, seguido do aparecimento dos sintomas típicos de diabetes (DO PRADO; RAMOS; DO VALLE, 2018).

Os primeiros sintomas que surgem são poliúria, polifagia e polidipsia, também denominados de síndrome dos 3P, bem como a cetoacidose diabética em casos mais graves (NOVÁS; MACHADO; GONSÁLEZ, 2006).

Com a destruição das células- β ocorre deficiência na produção da insulina, com aumento da concentração de glicose no sangue e diminuição nos tecidos, em especial o tecido adiposo e muscular. No tecido adiposo observa-se um aumento na lipólise e no tecido muscular observamos aumento no catabolismo proteico, provocando um equilíbrio energético negativo, tendo como consequência o aumento do apetite, polifagia, como mostra o esquema da figura 5. Com o aumento do apetite os eventos catabólicos prevalecem, resultando em perda de peso. A hiperglicemia excede o limiar renal para a reabsorção da glicose, levando à glicosúria. O aumento da glicose na urina induz a diurese osmótica e com isso a poliúria, gerando perda de água e eletrólitos. A hiperglicemia aliada à perda de água pela urina resulta em hiperosmolaridade provocando a perda da água intracelular. Esses eventos levam a desidratação e geram muita sede, fazendo com que a pessoa beba muita água, o que denominamos de polidipsia (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013).

não existem pesquisas conclusivas sobre os fatores de risco, mas já se sabe que existe uma influência genética associada (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2010).

Esta suscetibilidade genética está associada ao sistema antígeno leucocitário humano (HLA), codificada pelos genes do complexo maior de histocompatibilidade (MHC). Este sistema codifica moléculas encarregadas na apresentação de antígenos na superfície das células e estão envolvidas na rejeição contra enxertos (GOLDBERG; RIZZO, 2015). Essas moléculas de MHC podem apresentar peptídeos provenientes de proteínas estranhas ou das proteínas do próprio indivíduo, onde serão reconhecidos como próprios ou não próprios pelos receptores das células T (TCR), contribuindo para o sucesso da resposta imunológica (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

A região MHC localiza-se no braço curto do cromossomo 6, banda 21 e sub banda 3 (6p 21.3), com 4.000 kb de comprimento. O locus MHC contém dois conjuntos de genes extremamente polimórficos, denominados de MHC de classe I e classe II e alguns genes não polimórficos que codificam proteínas envolvidas na apresentação de antígenos. As moléculas de MHC contêm na sua região N-terminal uma fenda que liga peptídeos e regiões constantes que se ligam ao CD8 ($\alpha 3$ da MHC I) ou CD4 ($\beta 2$ da MHC II) na região C-terminal. Esta última região é uma porção transmembranar que se encontra acoplada à bicamada lipídica (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

A molécula de classe I contém uma cadeia α ligada à uma proteína, denominada de $\beta 2$ -microglobulina que confere estabilidade, codificada pelo cromossomo 15. A parte externa que contém os domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ formam uma fenda de ligação a peptídeos apresentados ao linfócito T. Estes domínios constituem a porção variável da molécula de MHC, contribuindo assim, para variação na capacidade de ligação de peptídeos. O domínio $\alpha 3$ é constante e contém o local de ligação para o receptor CD8 da célula T (figura 6) (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

Por outro lado, MHC II contém duas cadeias α e duas β . A região N-terminal da cadeia $\alpha 1$ e $\beta 1$ formam a fenda de ligação a peptídeos e são bastante polimórficos, enquanto que, o domínio $\beta 2$ não é polimórfico e contém o local de ligação para o coreceptor CD4 das células T (figura 7). Assim, as células CD4+ só podem responder ao MHC II e CD8+ apenas aos peptídeos apresentados pelo MHC I (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

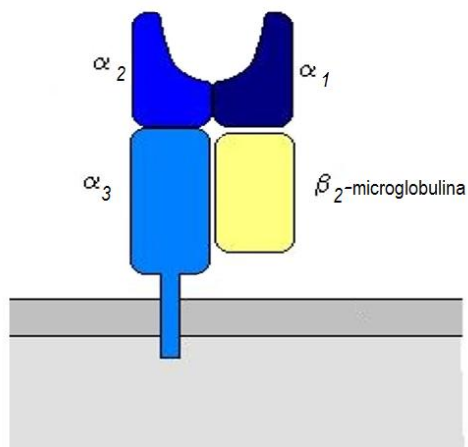
Os principais polimorfismos relacionados à molécula de MHC I em humanos são HLA-A, HLA-B, HLA-C expressas em todas as células nucleadas e estão relacionadas ao processamento e apresentação de antígenos intracelulares. A de classe II HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, HLA-DM e HLA-DO, expressas nas células apresentadoras de antígenos (APC), como macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans, Kupffer, assim como linfócitos B e atuam na apresentação e processamento de peptídeos extracelulares (GOLDBERG; RIZZO, 2015).

Com relação ao DM1, existem os haplótipos de predisposição e os de proteção como HLA DQ6. Em caucasianos os haplótipos HLA DR3-DQ2 e DR4-DQ8 está fortemente ligada ao desenvolvimento de DM1 (NEVES et al., 2017). Localizados na região do HLA II no braço curto do cromossomo 6 (6p21), no locus IDDM1 que constitui o principal determinante genético da DM1. Portanto um indivíduo portador dos haplótipos de predisposição tem um risco de 40% a 50% de desenvolver a doença. Esse risco torna mais significativa quando possui história familiar positiva para DM1 (GUELHO; PAIVA; CARVALHEIRO, 2013).

A deleção de linfócitos auto reativos no timo parece estar envolvida na predisposição do DM1A, porém o mecanismo não está muito bem esclarecido. Isso acontece, pois os polimorfismos do MHC II interfere na ligação dessa molécula com o peptídeo antigênico e o receptor do linfócito T. Assim, deleções mais efetivas dos linfócitos conferem resistência para o desenvolvimento da doença, ao passo que, deleções menos efetivas conferem susceptibilidade (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008).

Além dos locus IDDM1 relacionados ao HLA, existem outros que conferem suscetibilidade ao DM1, como o locus IDDM12 do gene CTLA-4 (Linfócito T citotóxico associado ao antígeno 4) que codifica um receptor da célula T, envolvido no controle da proliferação e apoptose destas células e a sua deficiência ou a presença de polimorfismos estão associados a doenças autoimunes. O locus IDDM2 na região 11p5-59 (região 5 do gene de insulina), composta por 14 a 15 pares de base de oligonucleotídeos que se repetem (VTNR, do inglês *variable number of tandem repeats*). Polimorfismo nessa região confere risco (repetições mais curtas) ou proteção (repetições mais longas) ao DM1. Existe o gene de PTPN22, que codifica a tirosina fosfatase linfocitária, porém o seu mecanismo não está totalmente claro (FERREIRA, 2005).

Figura 6 – Estrutura MHC I



Fonte (O autor, 2018)

Figura 7 – Estrutura MHC II



Fonte (O autor, 2018)

4.4.2 Fatores ambientais

Um dos principais fatores relacionados com a autoimunidade do DM1 são infecções virais, principalmente pelo Coxsackie B4 e B3, rubéola, citomegalovírus, etc. Estudos apontam que existe uma relação entre o surgimento da doença com a presença do agente infeccioso (FERNANDES et al., 2005).

Além disso, a geração de linfócitos T auto reativos e autoanticorpos que reconhecem os próprios determinantes sobre as células alvo, têm sido relatados como um dos mecanismos para o aparecimento da doença (BASON et al., 2013).

O vírus causa uma destruição direta das células β pancreáticas com consequente liberação de autoantígenos que estimulam linfócitos T autoreativos (FERNANDES et al., 2005).

Outro fator seria o mimetismo molecular, cuja hipótese está baseada na homologia parcial entre antígenos virais e algumas proteínas das células β , constituindo auto antígenos alvo na gênese de DM1. A resposta imune dirigida contra o antígeno viral induz através da reação cruzada a destruição do tecido pancreático (JAIDANE et al., 2009).

Um exemplo importante seria entre a protease viral 2C e GAD-65 no qual compartilham uma sequência de seis aminoácidos. Outro exemplo é o da tirosina

fosfatase (IA2) que possui uma similaridade de cinco aminoácidos na parte C- terminal com a proteína do capsídeo dos enterovírus (BASON et al., 2013).

Estudos recentes demonstram que, o vírus Coxsakie B pode proteger da doença, explicada pela hipótese higiênica, a partir de dois mecanismos: aumento de células Treg e inibição de determinados receptores de linfócitos. A hipótese de higiene defende que quanto maior o número de antígenos, que o indivíduo entrar em contato, melhor será a regulação da resposta imune (DO PRADO; RAMOS; DO VALLE, 2018).

Outro fator importante seria a introdução precoce de leite de vaca e deficiência na vitamina D. A vitamina D inibe a diferenciação de células dendríticas e a ativação imunológica (DO PRADO; RAMOS; DO VALLE, 2018).

4.5 Diagnóstico

Em DM, as alterações fisiopatológicas estão presentes antes dos valores da glicemia atingir níveis anormais. Esta condição denomina-se pré-diabetes, onde os níveis de glicemias estão alterados mas não o suficiente para confirmar o diagnóstico. Neste estágio a doença é assintomática na maioria dos casos, portanto o diagnóstico deverá ser feito seguindo alguns exames laboratoriais de rotina (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018).

Segundo Sociedade Brasileira de Diabetes (2018), existem alguns parâmetros laboratoriais que são padrão ouro no diagnóstico de DM em geral. Tais como, teste oral de tolerância à glicose (TOTG), hemoglobina glicada (HbA1c) e glicemia em jejum.

4.5.1 Teste oral de tolerância à glicose

É um teste que verifica a glicemia, antes e depois de duas horas, de uma sobrecarga oral de glicose, ou seja, indica ao profissional de saúde o tempo do metabolismo da glicose (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016).

É recomendado consumir uma dieta de 150g de carboidratos por 3 a 5 dias e não ingerir nenhum medicamento como esteroides e diuréticos tiazidicos, pois podem afetar a tolerância à glicose (GOYAL; JIALAL, 2018).

O indivíduo é considerado diabético quando após duas horas os níveis de glicose for maior ou igual a 200 mg/dL, conforme mostra a tabela 1 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016).

É importante salientar que mesmo sendo um ótimo teste para o diagnóstico de DM, ele apresenta também falhas, principalmente para gestantes. Munang et al. (2017), em seus estudos verificaram a reprodutibilidade desse teste e os fatores que levam aos resultados não reprodutíveis. Os principais fatores relacionados a não reprodutibilidade dos resultados foram principalmente, índice de massa corporal e a idade da gestante. Isto mostra que uma única dose de glicose oral para mulheres grávidas deve ser interpretada com cautela.

Tabela 1 – Valores de referência TOTG

Resultado	TOTG
Normal	< 140 mg/dL
Pré diabetes	140 mg/dl – 199 mg/dL
Diabetes	≥ 200 mg/dL

Fonte: (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016)

4.5.2 Hemoglobina glicada

A Hemoglobina glicada ou hemoglobina glicosilada (HbA1c) é o produto de uma reação não enzimática entre a glicose e a hemoglobina A (HbA), denominada reação de Maillard. Nesta reação o terminal valina da cadeia beta se encontra ligada à glicose por meio de uma ligação irreversível (NETTO et al., 2009). Para que isso aconteça deve-se levar em conta alguns fatores: tempo de meia-vida dos eritrócitos, concentração da glicose plasmática e permeabilidade da membrana do eritrócito à glicose (MAGALHÃES et al., 2012).

O eritrócito é altamente permeável à glicose, portanto a medida que a concentração da glicose aumenta, maior será a sua exposição à hemoglobina, e conseqüentemente a taxa de glicação será maior (MAGALHÃES et al., 2012). Além disso, os eritrócitos jovens possuem pouca quantidade de HbA1c, essa quantidade vai aumentando quanto maior for a exposição glicêmica, sendo máxima nas células mais velhas (DE TORRES, 2010). Com isso, quanto maior a quantidade de glicose ligada à

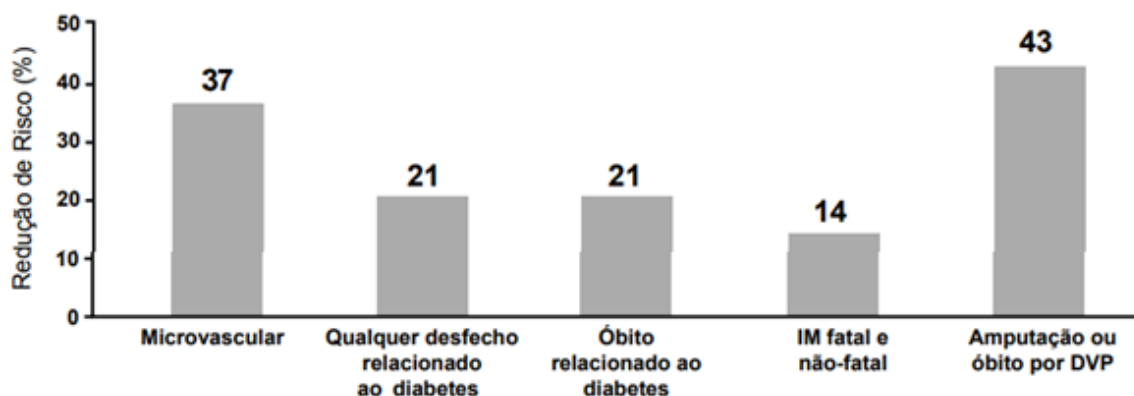
hemoglobina, maior será a sua concentração média no sangue (MAGALHÃES et al., 2012).

Sabe-se que os eritrócitos possuem um tempo de vida de 120 dias aproximadamente, portanto a medida da quantidade de glicose ligada à hemoglobina é útil para avaliação do controle glicêmico no período de 90 a 120 dias antes da realização do exame. Ou seja, este exame é uma ferramenta que deve ser realizada de forma contínua, permitindo assim o monitoramento do paciente diabético e o grau de controle glicêmico (SUMITA; ANDRIOLO, 2008).

Os valores de referência da HbA1c variam de 4% a 6%, acima de 7% indica um mau controle glicêmico e um risco progressivo de desenvolvimento de complicações crônicas (ver a figura 8). Isto se deve à geração dos chamados produtos finais de glicação avançada (AGEs), contribuindo para o aumento do risco das complicações crônicas de DM (NETTO et al., 2009).

A American Diabetes Association (ADA) estabelece que 7% é o limite superior para um paciente com DM bem controlado, por outro lado a Sociedade Brasileira de Diabetes recentemente definiu que para um bom controle glicêmico a HbAc deve ser até 6,5%.

Figura 8 – Relação entre a HbA1c e o risco de complicações microvasculares.



IM: infarto do miocárdio; DVP: doença vascular periférica

Fonte: (NETTO et al., 2009).

4.5.2.1 A hemoglobina glicada no rastreio de DM e suas limitações

Normalmente os riscos de doenças cardiovasculares aumentam antes da glicemia em jejum se elevar, essa seria uma das principais vantagens da dosagem da HbA1c para pacientes com DM (CAVAGNOLI; GROSS; CAMARGO, 2010).

Segundo Sumita e Andriolo (2008), não existe estudo que justifica a realização desse exame com finalidade diagnóstica, mas, apenas para acompanhar o tratamento. Isto porque a dosagem da HbA1c possui uma boa especificidade para o diagnóstico, porém, sem sensibilidade suficiente. Só ela não é suficiente, necessitando de TOTG para a confirmação.

Uma outra limitação, se deve ao seu valor econômico, que, de acordo com Sumita e Andriolo (2008) não seria suficientemente compatível do ponto de vista econômico para o rastreamento das populações mais pobres.

Ainda, a avaliação dos níveis glicêmicos é o método mais importante para o diagnóstico de DM. Claro que, níveis de HbA1c alto pode indicar uma possível diabetes, assim como, níveis baixos não excluem o diagnóstico, por exemplo em pacientes com hemoglobinopatias, anemia, etc. Portanto, o diagnóstico definitivo é dado seguindo as diretrizes recomendadas com base nos níveis glicêmicos (NETTO et al., 2009).

4.5.3 Glicemia em jejum

Glicose em jejum determina níveis de glicose no sangue após um período de jejum prolongado (DEFRONZO et al., 2015).

Normalmente utiliza-se soro ou plasma para dosagem da glicemia em jejum. O método mais utilizado é o enzimático com oxidase ou hexoquinase, contendo fluoreto no tubo. O fluoreto em conjunto com a refrigeração do tubo, inibe o metabolismo da glicose pelas hemácias, impedindo resultados falso negativos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015).

Este teste é feito sempre em jejum de 8 horas, preferencialmente pela manhã. Uma pessoa é considerada diabética quando apresenta glicose de jejum igual ou

superior a 126 mg/dL, conforme demonstra a tabela 2 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

Só a glicemia de jejum não é suficiente para o acompanhamento do controle glicêmico, pois reflete apenas uma medida pontual, no momento da coleta (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015).

Tabela 2 – Valores de referência glicemia em jejum

Resultado	Glicemia em jejum
Normal	< 100 mg/dL
Pré diabetes	100 mg/dl – 125 mg/dL
Diabetes	≥ 126 mg/dL

Fonte: (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016)

5 Marcadores humorais no diagnóstico de DM1A

Com relação a DM1A vários marcadores humorais vem sendo estudados servindo como mais um parâmetro de apoio ao diagnóstico. Estes marcadores constituem um papel importante no diagnóstico, uma vez que podem ser identificados ainda num estágio anterior à manifestação da doença (pré diabético), ou seja, no período prodrômico (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018). A identificação precoce é de extrema importância, pois o início é abrupto na maioria dos casos, podendo ser a cetoacidose a primeira manifestação (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018).

Estudos mostram que a maioria dos pacientes com diagnóstico recente de DM1A, tem no soro anticorpos dirigidos contra diferentes antígenos das células-β pancreáticas (WITT et al., 2011). Pacientes não diabéticos com os presentes marcadores evoluíram para diabetes manifesto no período de 15 anos, aproximadamente. Demonstrando que eles possuem uma sensibilidade e especificidade suficiente para servir de apoio ao diagnóstico, conforme o quadro 1. O diagnóstico de DM1A é definido pela presença de um ou mais desses marcadores autoimune (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018).

Quadro 1 – Sensibilidade e especificidade dos autoanticorpos para o diagnóstico.

Anticorpos	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Anti IA-2	55% a 75%	-----
Anti GAD	70% a 90%	99%
Anti IAA	50% a 70%	-----
Anti ZNT8	50% a 70%	99%

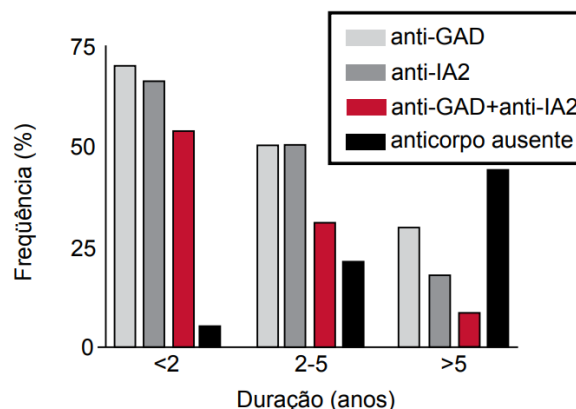
Fonte: Modificado de (MARACHIN et al., 2010)

5.1 Anti IA-2- Anti tirosina fosfatase ou anti insulinoma do antígeno dois

IA2 detecta anticorpos contra a proteína da família tirosina fosfatase, na qual controla vários eventos celulares importantes. Elas compõem uma grande família de enzimas responsáveis pela hidrólise do fosfato ligado a resíduos de tirosina em proteínas (TAKEYAMA et al., 2009).

Este autoanticorpo é detectado em 60% - 70% de diabéticos com diagnóstico recente, sendo que é frequente nos primeiros 5 anos da doença, após isso a sua prevalência diminuiu, conforme demonstra a figura 9. A sua expressão não é exclusiva das células pancreáticas, sendo frequentes em células do estômago, glândula pineal, hipotálamo, etc (MCLAUGHLIN et al., 2015).

Logo no início da doença podem ser divididos com base no reconhecimento dos epítomos: aquelas dirigidas contra múltiplos epítomos curtos no domínio justamembranar citoplasmático e aqueles contra epítomos conformacionais no domínio da proteína tirosina fosfatase (PTP) nas células pancreáticas (TAKEYAMA et al., 2009).

Figura 9 – Frequência dos anticorpos detectado ao longo dos anos

Fonte: (DA SILVA; MORY; DAVINI, 2008)

Segundo estudos, existe uma relação entre autoanticorpo IA2 com a presença de HLA-DR4, um gene de suscetibilidade para DM1. Verificou, que peptídeos derivados de IA2 ligam à HLA-DR4, estimulando respostas de células T em pacientes com DM1. Isto faz com que a resposta autoimune a IA2 torna-se útil para estudar as ligações das respostas das células T com HLA-DR4 (MCLAUGHLIN et al., 2015).

5.2 Anti GAD 65 (GAD) – Anticorpos anti descarboxilase do ácido glutâmico

GAD é a enzima catalisadora do ácido gama aminobutírico (GABA), um neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (KANAANI et al., 2015). Existem duas importantes isoformas, o GAD67 e GAD65. Enquanto a primeira produz o GABA basal, a segunda é ativada para produzir GABA extra quando necessário (FENALTI et al., 2007). Ambas isoformas são dímeros funcionais obrigatórios que podem formar tanto homodímeros e heterodímeros (KANAANI et al., 2015). Porém GAD65 é geralmente encontrado em um complexo multiproteico associado ao lado citoplasmático da membrana de SLMV (*synaptic-like microvesicles*), onde o GABA é armazenado em vesícula após ser sintetizada (TOWNS; PIETROPAOLO, 2011).

GAD 65 (GADA) possui um domínio N-terminal e C-terminal. O primeiro, contém o sítio de ligação do cofator piridoxal 5-phosphato (PLP) e o segundo possui uma atividade catalítica (LAMPASONA; LIBERATI, 2016).

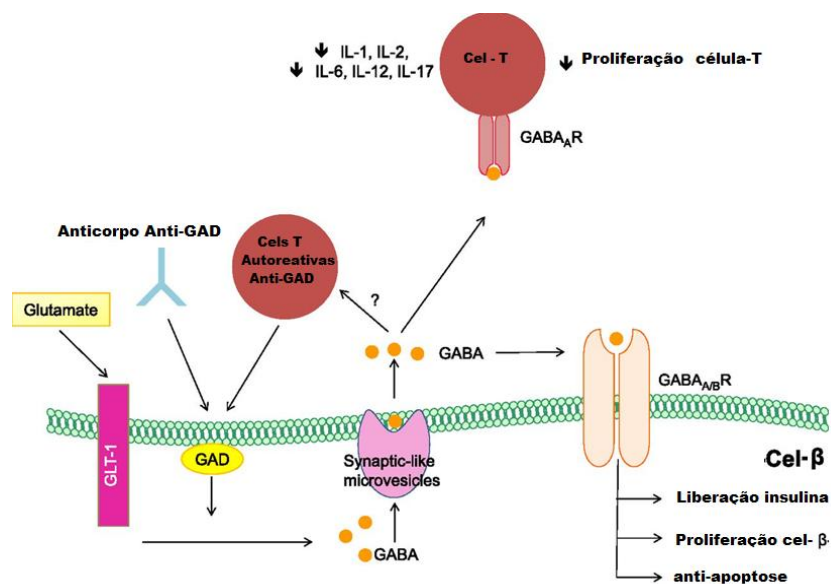
São encontradas principalmente em neurônios gabaérgicos e em várias outras células não neurais (TOWNS; PIETROPAOLO, 2011), incluindo a do estômago, útero, tuba uterina, intestino, olhos, pâncreas, etc. Nas ilhotas pancreáticas é encontrado em maior quantidade nas células- β e poucas em células- α . Reconhece epítomos dos antígenos em DM1 e em várias outras doenças autoimunes, podendo dirigir contra epítomos no N-terminal, contra epítomos contidos no meio e contra os do domínio C-terminal (LAMPASONA; LIBERATI, 2016).

5.2.1 A enzima GAD e células- β pancreáticas

O glutamato extracelular, o precursor do GABA, entra nas células- β através do transportador de glutamato-1 (GLT-1), onde é convertido em GABA pela enzima GAD e é então armazenado em microvesículas sinápticas. O GABA quando liga no seu

receptor expresso nas células- β , promove um aumento na liberação de insulina, protegendo estas células da apoptose e estimulando a sua proliferação. Por outro lado, as células T são sensíveis ao GABA devido à presença de receptores na sua superfície celular. O GABA exerce um efeito imunomodulador nas células T, diminuindo assim, a produção de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12 e IL-17). É importante destacar que o GAD é alvo de células T autorreativas e anticorpos específicos anti-GAD em DM1, levando à sua destruição e inibição de toda a sinalização intracelular, conforme demonstrado na figura 10 (FIORINA, 2013).

Figura 10 – Ação da enzima GAD nas células- β pancreáticas



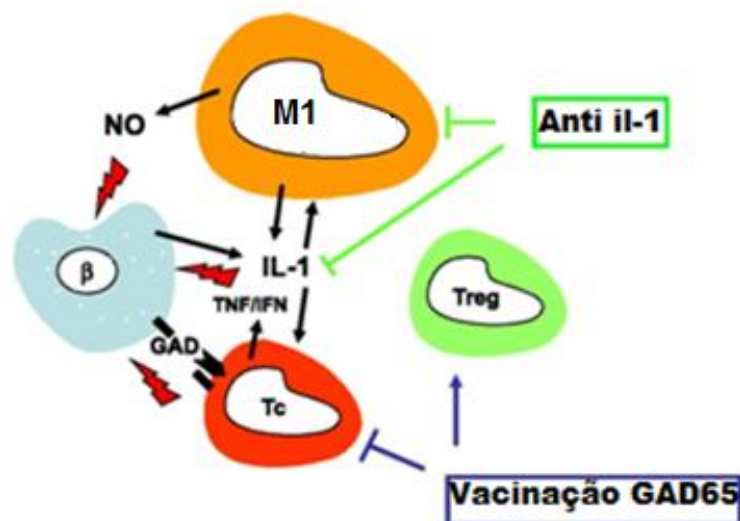
Fonte: Adaptado de (FIORINA, 2013)

5.2.2 Imunoterapia com GAD-alum

GAD-alum é uma vacina para DM1 cujo princípio ativo é o GAD65, juntamente com o coadjuvante hidróxido de alumínio. O hidróxido de alumínio aumenta a resposta imune ao antígeno. O composto quando injetado, é reconhecido pelas APC, que processam e apresentam os peptídeos aos linfócitos T (MORALES; THRAILKILL, 2011).

O mecanismo de ação principal é indução e proliferação de linfócito Treg específicos para GAD65, responsáveis pela inativação e recrutamento de linfócitos T citotóxicos que destroem as células-β pancreáticas (MORALES; THRAILKILL, 2011). Pesquisas demonstram que antagonistas de IL-1 podem ser usados em conjunto com GAD-alum para o tratamento de diabetes. Eles diminuem o recrutamento de macrófagos M1 que são pró-inflamatórios, enquanto, o GAD-alum regula positivamente as células Treg e diminui a ativação de células T citotóxicas (figura 11). A principal consequência disto é a redução da inflamação nas ilhotas pancreáticas bem como diminuição na expressão de mediadores inflamatórios como IL-1, TNF-α e IFN-γ (MADRUP-POLSAN, 2014).

Figura 11 – Vacinação anti-GAD e antagonistas IL-1



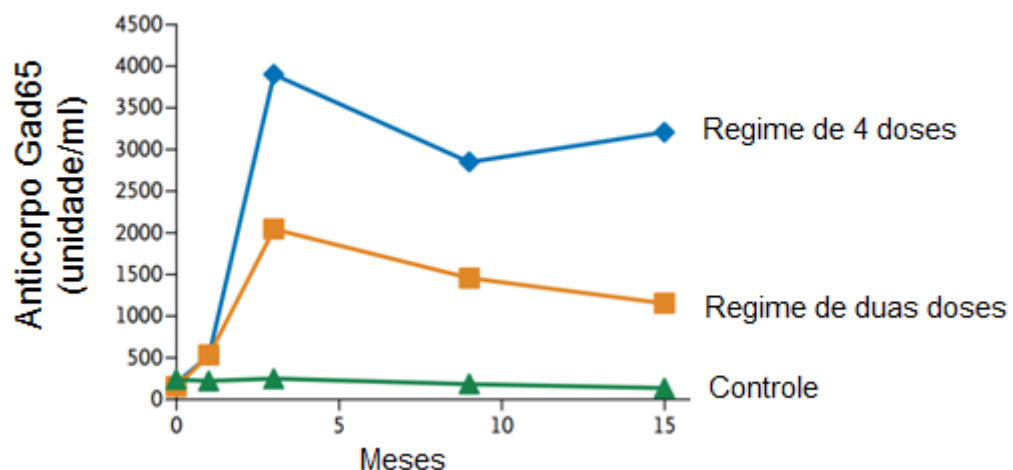
Fonte: (MADRUP-PULSAN, 2014)

Segundo estudos, a administração de GAD65 mostrou-se eficiente na prevenção da resposta imune contra as células do pâncreas e sem reações adversas (MARQUES, 2017). No entanto, a sua eficácia não foi suficientemente boa comparada com o grupo controle. Ela possui um perfil de segurança boa, mas os estudos estão sendo desenvolvidas para verificar a sua eficácia, principalmente em populações pediátricas (FLEMING; KLONOFF, 2009).

Ludvigsson et al. (2012), compararam os níveis de anticorpos anti-GAD65 em dois grupos com dose de GAD-alum diferentes em relação ao grupo controle, como mostra a figura 12. Verificaram que no período de 15 meses de tratamento, os níveis de GAD65 foram sempre mais elevados nos grupos que receberam a dose do que no controle. Isto mostra que o tratamento não teve um benefício significativo durante este período.

Segundo Morales e Thraikill (2011), esta vacina poderá ser desenvolvida em combinação com outras terapias, como por exemplo, terapias com multidrogas, investigando outras formas de administração.

Figura 12 – Níveis de anticorpos GAD65 em diferentes grupos de estudos.



Fonte: Adaptado de (LUDVIGSSON et al., 2012)

5.3 Anti IAA- anti insulina

A sua prevalência varia com a idade, estando presente em 60% de pacientes com diagnóstico recente de DM1, principalmente crianças com menos de 10 anos. Isto porque, no início do diagnóstico existem algumas células produtoras de insulina viáveis. Com o passar dos anos a quantidade destas células desaparecem, o que seria um dos motivos do desaparecimento deste anticorpo a longo prazo. Podem ser identificados em pacientes que realizam a insulino terapia. São um dos primeiros anticorpos a serem identificados, ainda na fase pré-clínica. Assim como os outros anticorpos, o radioimunoensaio é o método utilizado para a sua determinação (YI; SWENSEN; QUIAN, 2018).

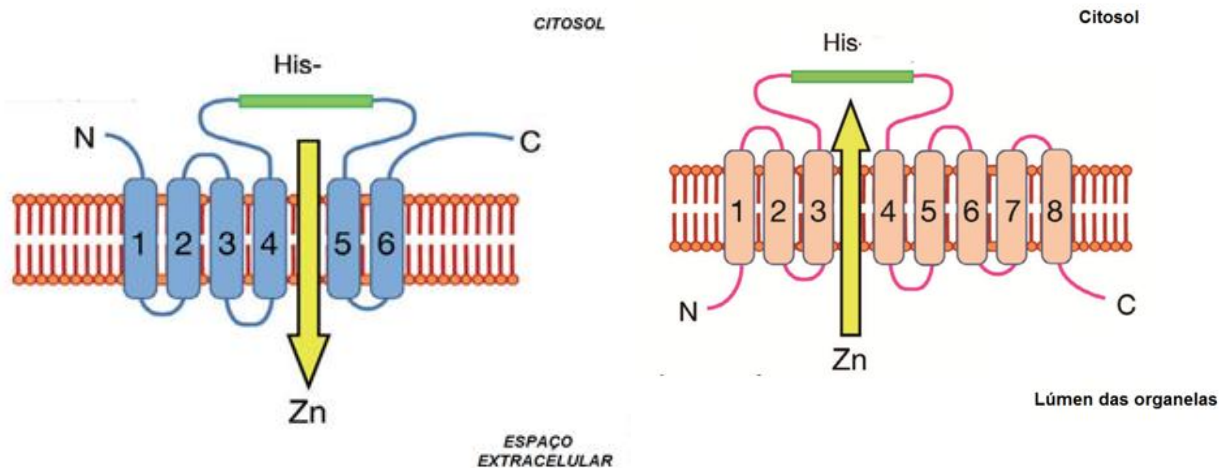
Os anti-IAA são dirigidos contra epítomos 8 a 13 da cadeia de insulina, no entanto existem outros epítomos localizados nos resíduos 28-30 que podem dirigir, porém são de baixa afinidade (LAMPASONA; LIBERATI, 2016).

5.4 Anti ZNT8- anti transportador de zinco

O ZNT8 é uma proteína transmembranar de múltiplas passagens, codificada pelo gene SLC30A8 e participa do transporte de Zn^{2+} desde o citoplasma das células- β até a vesícula onde a insulina é secretada e armazenada. É expressa principalmente nas células- β pancreáticas, contribuindo para maturação da insulina (KAWASAKI et al., 2010).

Os transportadores de zinco (ZnTs) regulam a sua homeostasia, transportando-o do citosol para o espaço extracelular ou do lúmen para o citosol, diminuindo assim, os seus níveis intracelulares, figura 13 (DENIRO; AL-MOHANNA, 2012).

Figura 13 – Estrutura do ZNT8 e o seu transporte na célula

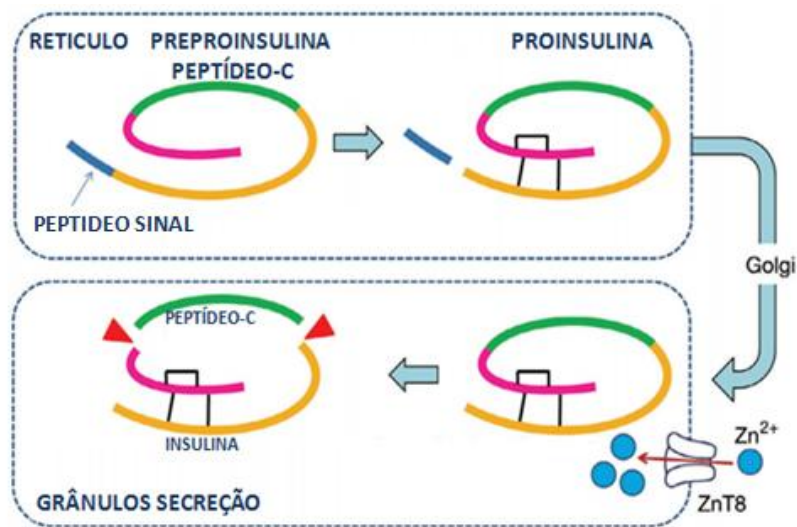


Fonte: Adaptado de (KAWASAKI, 2012)

O Zn^{2+} é fundamental para a sobrevivência das células e participa na estrutura de algumas proteínas. Participam dos processos de replicação das células, atividades enzimáticas, proteção contra apoptose e estresse oxidativo (CHIMIENTI et al., 2006). Este íon nos grânulos de secreção de insulina são de extrema importância para o armazenamento adequado, secreção e ação da mesma (KAWASAKI, 2012).

A síntese de insulina se inicia no retículo endoplasmático, onde a pré-proinsulina perde o peptídeo sinal, transformando-se em proinsulina. Em seguida a molécula recém sintetizada vai para o complexo de golgi, onde será empacotada em vesícula após a clivagem do peptídeo C pelas enzimas proteolíticas. Para isso a molécula de insulina recém sintetizada se agrega formando um hexâmero estabilizado por dois íons zinco e cálcio, demonstrado na figura 14 (LEMAIRE et al., 2009).

Figura 14 – Síntese de insulina



Fonte: Adaptado de (KAWASAKI, 2012)

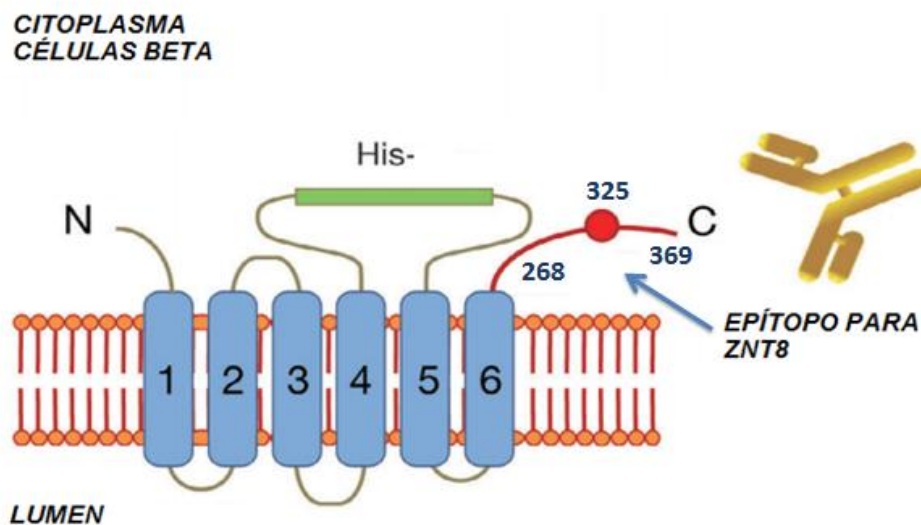
5.4.1 Expressão do ZNT8 em tecidos e reconhecimento de epítomos

Existem vários tecidos com quantidades mínimas de mRNA do gene ZNT8, como adipócitos, epitélio pigmentar da retina fetal e alguns linfócitos. Porém, a expressão da proteína é confirmada apenas em ilhotas pancreáticas e de forma menos expressiva na retina. O zinco tem um papel específico nestas células, onde a sua concentração está entre as mais altas do corpo (CHIMIENTI et al., 2006).

Os epítomos ZNT8 estão presentes na sua grande maioria no domínio C-terminal e alguns no N-terminal. Estudos recentes demonstraram que apenas 10% dos pacientes positivos para ZNT8 possuem anticorpos para o domínio N-terminal (WENZLAU et al., 2008). A resposta autoimune do DM1 ao ZNT8 é definida pelo aminoácido arginina e triptofano no domínio 325 (aa325), bastante polimórfico, localizado na região C-

terminal, conforme a figura 15. Esta variante polimórfica que determina a especificidade da resposta autoimune (YI; HUANG; ZHOU, 2016).

Figura 15 – ZNT8 e reconhecimento de epítopo



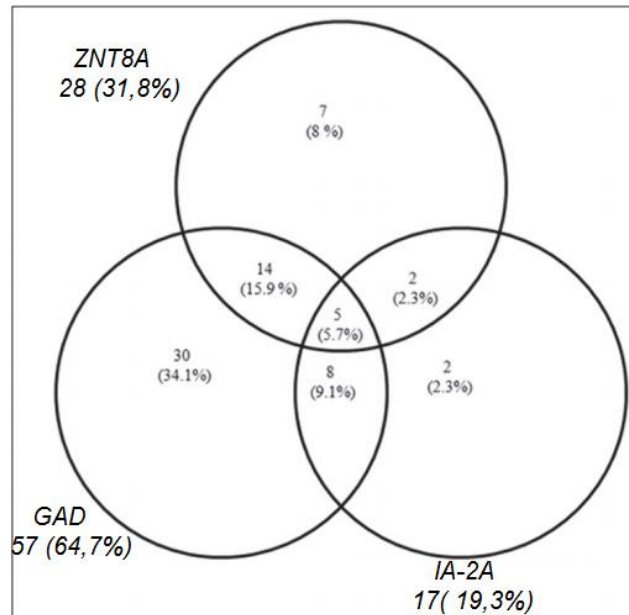
Fonte: (KAWASAKI, 2012)

5.4.2 Relatos na literatura

Estudos recentes demonstraram aumento na positividade para anticorpos anti-ZNT8, tendo a sua sensibilidade aumentada para 98% quando associados a outros marcadores, como GADA, IAA e IA-2 (KAWASAKI et al., 2010).

Shivaprasadi et al. (2014), realizaram uma pesquisa com pacientes da população indiana de faixa etária entre 2-18 anos. No total de 88 pacientes, 31,8% eram positivos para anti-ZNT8, sendo que 26% dos pacientes negativos para anti-GAD65 e anti-IA2A tiveram o diagnóstico positivo para anti-ZNT8. A combinação deste anticorpo com o GAD aumentou a sensibilidade do diagnóstico em até 90%. Com isso, concluíram que este anticorpo deve ser incluído no diagnóstico de DM1A de forma a aumentar a sensibilidade, principalmente em pacientes com diagnóstico recente, conforme demonstrado na figura 16.

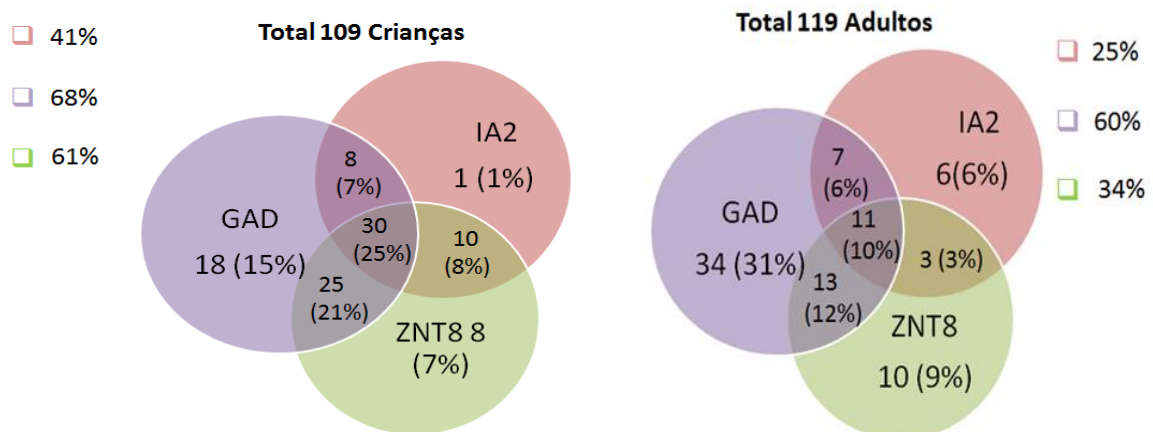
Figura 16 – Combinação dos autoanticorpos em paciente com DM1A



Fonte: (SHIVAPRASADI et al., 2014)

Do mesmo modo, Garnier et al. (2018), observaram que no total de 228 pacientes, 73% eram positivos para GAD e/ou IA-2A, sendo 119 crianças e 109 adultos. Quando o anti-ZNT8 foi adicionado ao diagnóstico em conjunto com anti-GAD65 e anti-IA2A a positividade aumentou para 81%. Neste estudo o GAD foi o anticorpo mais prevalente, sendo maior em pacientes mais novos, seguido por ZNT8 também mais frequente nas crianças do que adultos, figura 17.

Figura 17 – Positividade do diagnóstico de DM1A quando o ZNT8 é adicionado



Fonte: (GARNIER et al., 2018).

6 Tratamento

Tanto para DM1 quanto DM2 o exercício físico e uma dieta balanceada, pobre em gorduras saturadas e rica em fibras e gorduras monoinsaturadas é essencial para o controle da doença. Exercício físico regular ajuda a combater doenças cardiovasculares, melhora o metabolismo dos lipídeos e previne a cetoacidose (GOYAL; JIALAL, 2018).

No entanto em portadores de DM2 é necessário uso de hipoglicemiantes orais para o controle da glicemia. Os principais mecanismos envolvem: diminuição na resistência a insulina, no caso da metformina e glitazona; aumento na secreção de insulina por um mecanismo independente de glicose, como as sulfonilureias e meglitinida; supressão na secreção de glucagon por um mecanismo dependente de glicose, como por exemplo agonistas de receptores de peptídeos semelhantes glucagon (GLP-1) e inibidores de dipeptidil peptidase-4 (IDPP-4) (BUCZKOWSKA; JAINTA, 2017).

Por outro lado, em DM1 o tratamento envolve insulina exógena. Um dos principais problemas do uso de insulina é na população pediátrica no qual o ajuste da dose torna-se um desafio, além disso crianças são mais propensas a ter variações na glicemia tornando difícil o controle glicêmico. Para adolescentes e jovens com diagnóstico recente de DM1 a dose da insulina tende a diminuir nos primeiros 6 meses após o diagnóstico, pois existe ainda quantidade de células β viáveis. Com o passar dos anos, a destruição das células β aumenta e a necessidade de insulina também (DO PRADO; RAMOS; DO VALLE, 2018).

Hoje em dia existe no mercado diferentes formas de insulina, mas com o mesmo efeito fisiológico. A diferença entre elas está na rapidez da ação, o tempo para atingir o pico máximo e a duração da ação. São elas, insulina de ação ultrarrápida, intermediária, ação longa e ultra longa. Estudos estão sendo desenvolvidos sobre efeitos de metformina adicionado à terapia adjuvante com insulina, uma vez que esta droga ajuda a combater os eventos cardiovasculares e melhora o metabolismo dos lipídeos (BUCZKOWSKA; JAINTA, 2017).

Para o sucesso no tratamento, da DM1 e da DM2 é necessário levar em conta o biotipo do paciente, idade, alimentação, o contexto socioeconômico e o risco de

episódios de hipoglicemia. Para crianças é sempre bom orientar os pais sobre a correta aplicação da insulina e das possíveis complicações agudas e crônicas, bem como o risco de hipoglicemias e condutas necessárias, visando uma vida mais tranquila (DO PRADO; RAMOS; DO VALLE, 2018).

7 CONCLUSÃO

Os autoanticorpos constituem marcadores específicos da progressão de DM1, sendo que a sua presença é um forte indicador de insulino dependência. Estes anticorpos auxiliam a correta classificação da doença, mas também, auxiliam na predição, prevenção e tratamento mais direcionado e eficaz. Estes marcadores vêm sendo implementados no diagnóstico de DM1 uma vez que aparecem antes da manifestação da doença, permitindo a identificação mais precocemente. Entretanto, a identificação tardia é uma das principais causas de mortalidade, principalmente no ambiente pediátrico. Estudos demonstram que grande parte dos pacientes morre nos primeiros anos após o diagnóstico. Isso se deve ao tratamento não tão eficaz que facilita o aparecimento de complicações agudas e crônicas, como a cetoacidose diabética, hipertensão arterial, nefropatia, amputação de membros, entre outros. Um dos principais problemas desses anticorpos deve-se ao fato deles estarem prevalentes quando a sintomatologia é ausente. Contudo, a maioria dos pacientes só procuram profissionais da saúde quando os sinais e sintomas aparecem, retardando o diagnóstico. Hoje em dia vacina com GAD alum está sendo desenvolvida, porém até o momento não foi verificado resultados satisfatórios. Os presentes marcadores servem também como medida profilática quando existe histórico de diabetes autoimune na família, permitindo a introdução oportuna de estratégias de prevenção, como exercício físico regular e mudança na alimentação e estilos de vida. A Sociedade Brasileira de Diabetes refere, que metade da população não está ciente dos principais riscos e consequências decorrentes da doença, constituindo um problema importante de saúde pública. Com isso, campanhas de conscientização devem ser realizadas, ressaltando a importância da prevenção, os principais fatores de riscos, bem como a prevalência, tanto a nível nacional quanto mundial, visando diminuir o número de casos novos. Além disso, mais estudos devem ser feitos relacionados a estes marcadores, com objetivo da sua implementação cada vez mais no diagnóstico de rotina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. **Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 314 p.

ARSA, Gisela et al. Diabetes mellitus tipo 2: Aspectos fisiológicos e formas de exercício físico para o seu controle. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**. São Paulo Brasil, v.11, n.1, p.103-111. 2008. Disponível em: https://repositorio.ucb.br/jspui/bitstream/123456789/7455/1/Diabetes%20Mellitus%20tipo%202_%20Aspectos%20fisiol%C3%B3gicos%20gen%C3%A9ticos%20e%20formas%20de%20exerc%C3%ADcio%20f%C3%ADsico%20para%20seu%20controle.pdf. Acesso em: 29 Maio 2018.

AIRES, Margarida de Mello. **Fisiologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 1335 p.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Diabetes.org**. Disponível em: <<http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diagnosis/>>. Acesso em: 2 ago 2017.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Diabetes.org**. Disponível em: <<http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diagnosis/>>. Acesso em: 2 ago 2018.

BASON, Caterina et al. In type 1 diabetes a subset of anti-coxsakievirus B4 antibodies recognize autoantigens and induce apoptosis of pancreatic beta cells. **Plos one**, United State of America, v.8, n.2, p.1-11, fev. 2013.

BUCZKOWSKA, Ewa Otto; JAINTA, Natalia. Pharmacological treatment in diabetes mellitus type 1: Insulin and what else?. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, Poland, v.16, n.1, p. 1-7, out. 2017.

CAVAGNOLI, Gabriela; GROSS, Jorge; CAMARGO, Joíza Lins. Hb1Ac, glicemia de jejum e teste oral de tolerância à glicose no diagnóstico de diabetes: Que teste usar?. **Ver HCPA**, Porto Alegre, v.30, n.4, p. 315-320, nov/dez. 2010.

CHIMIANTI, Fabrice et al. In vivo expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. **Journal of Cell Science**, France, v. 119, n. 20, p. 4199-4206, Jul. 2006.

DA SILVA, Maria Elizabeth Rossi; MORY Rossi Denise; DAVINI, Elaine. Marcadores genéticos e auto-imunies do Diabetes Tipo 1: da Teoria para a Prática. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia**, São Paulo Brasil, v.52, n.2, p.166-180. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v52n2/04.pdf>>. Acesso em: 08 dezembro 2017.

DENIRO, Michael; AL-MOHANNA, Futwan A. Zinc transporter 8 (ZnT8) expression is reduced by ischemic insults: a potential therapeutic target to prevent ischemic retinopathy. **Plos One**, Saudi Arabia, v.7, n. 11, p.1-12, Nov. 2012.

DEFRONZO, Ralph A. et al. Type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews**, USA, v.1, n. 15019, p. 1-22, Jul. 2015.

DE TORRES, Rafael Llanes. Glicada para el diagnóstico de la diabetes, ¿un estándar universal?. **Atención Primaria**, v.42, n.11, p.571-57. 2010.

DO PRADO, Felício Cintra; RAMOS, Jairo de Almeida; DO VALLE, José Ribeiro. **Atualização Terapêutica**. 26.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2018. 2136 p.

FACCINETTI, Natalia I. et al. Characterization of zinc transporter 8 (ZnT8) antibodies in autoimmune diabetic patients from Argentinian population using monomeric, homodimeric, and heterodimeric ZnT8 antigen variants. **European Journal of Endocrinology**, Argentina, v.174, n.2, p. 157-165. 2016.

FACCINETTI, Natalia Inés et al. Detección y caracterización de autoanticuerpos anti-ZnT8 en pacientes argentinos com diabetes mellitus tipo 1. **Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo**, Argentina, v. 53, n.3, p. 77-83. 2016.

FERREIRA, Alessandro Clayton de Souza. **Determinação de predisposição genética ao diabetes mellitus do tipo 1**. 2005. 52 f. Tese (Mestrado em genética)- Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

FERNANDES, Ana Paula et al. Fatores imunogenéticos associados ao Diabetes Mellitus do tipo 1. **Revista Latino-americana De Enfermagem**, São Paulo, v.13, n.5, p.743-749, set/out. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-11692005000500020>. Acesso em: 5 maio 2018.

FENALTI, Gustavo et al. GABA production by glutamic acid decarboxylase is regulated by a dynamic catalytic loop. **Nature Structural and Molecular Biology**, Austrália, v.14, n.4, p. 280-286, Abril. 2007.

FLEMING, G. Alexander; KLONOFF, C. David. Glutamic acid decarboxylase therapy for recent-Onset type 1 diabetes: are we at the end or the beginning of finding a Cure?. **Diabetes Technology Society**, California, v. 3, n. 2, p. 215-218, Mar. 2009.

FIORINA, Paolo. GABAergic system in b-Cells: from autoimmunity target to regeneration tool. **Diabetes Journals**, Boston, v. 62, p.3674-3676, Nov. 2013.

GARNIER, Lorna et al. Screening of ZnT8 autoantibodies in the diagnosis of autoimmune diabetes in a large French cohort. **Clinica Chimica Acta**, Australia, v.478, p. 162–165, Dez. 2018.

GOYAL, Rajeev; JIALAL, Ishwarlal. Diabetes mellitus type 2. **StatPearls**, Treasure Island, jun. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513253/>. Acesso em: 04 ago 2018.

GUELHO, Daniela; PAIVA, Isabel; CARVALHEIRO, Manuela. Diabetes mellitus- um «continuum» fisiopatológico. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, Coimbra Portugal, v8, n.1, p. 44-49. 2013. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S1646343913000114/1-s2.0-S1646343913000114-main.pdf?_tid=2c5fb9f2-7cbe-4f6e-b36d-f64c5df30276&acdnat=1522112559_15d7892c9a9420e5fbf73c5da9a41c1c>. Acesso em: 30 março 2018.

GOLDBERG, Anna Carla; Rizzo, Luiz Vicente. Estrutura do MHC e função-apresentação de antígenos parte1, 2015. São Paulo, v.13, n.1, p.153-156. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/eins/v13n1/pt_1679-4508-eins-1679-45082015RB3122.pdf>. Acesso em: 30 março 2018.

JAIDANE, H. et al. Coxsackievirus B4 and type 1 diabetes pathogenesis: contribution of animal models. **Diabetes Metab Res Ver**, France, v. 25, p. 593-603, Maio. 2009.

KANAANI, Jamil et al. Compartmentalization of GABA synthesis by GAD67 differs between pancreatic beta cells and neurons. **Plos One**, v.10 , n.2, p. 1-24, Feb. 2015.

KAWASAKI, Eiji et al. Differences in the humoral autoreactivity to zinc transporter 8 between childhood- and adult-onset type 1 diabetes in Japanese patients. **Clinical Immunology**, Japão, v.1, n.1, p.146-153, Nov. 2010.

KAWASAKI, Eiji et al. ZnT8 and type 1 diabetes. **Endocrine Journal**, Japão, v.59, n.7, p. 531-537, Fev. 2012.

KUMMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins Patologia Básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 910 p.

KUMAR, Vinay et al. **Robbins Patologia Básica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 1028 p.

LAMPASONA, Vito; LIBERATI, Daniela. Islet autoantibodies. **Curr Diab Rep**, New York, v.16 n.53, p. 2-10, abril. 2016.

LEMAIRE, K et al. Insulin crystallization depends on zinc transporter ZnT8 expression, but is not required for normal glucose homeostasis in mice. **PNAS**, Belgium, v.106, n.35, p.14872–14877, Set. 2009.

LUCENA, Joana Bezerra Da Silva. Diabetes Mellitus tipo 1 e tipo 2. 2007. 74 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia/FMU)– Centro Universitário Das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007.

LUDVIGSSON, Johnny et al. GAD65 antigen therapy in recently diagnosed Type 1 diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**, Inglaterra, v.366, n.5, p. 433-442, Feb. 2012.

MANDRUP- POULSEN, Thomas. Interleukin-1 antagonism: A sturdy companion for immune tolerance induction in type 1 diabetes?. **American Diabetes Association**, Estados Unidos da America, v.63, p. 1833-1835, Jun. 2014.

MALTA, Deborah Carvalho et al. Fatores associados ao diabetes autorreferindo segundo a pesquisa Nacional de Saúde. **Revista de Saúde Pública**, Belo Horizonte Brasil, v.5, n.1, p. 1-11. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v51s1/pt_0034-8910-rsp-S1518-87872017051000011pdf>. Acesso em: 08 dezembro 2017.

MARASCHIN, José de Faria et al. Classificação do diabete melito. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**, Rio Grande do Sul Brasil, v.95, n.2, p.40-47. 2010. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0066-782X2010001200025&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 20 outubro 2017.

MARCELINO, Daniela Botti; CARVALHO, Dava de Barros. Reflexões sobre o diabetes tipo 1 e sua relação com o emocional, v.18, n.1, p. 72-77. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/prc/v18n1/24819.pdf>>. Acesso em 14 novembro 2017.

MAGALHÃES, Géssica Lopes et al. Atualização dos critérios diagnósticos para Diabetes Mellitus utilizando a A1C. **HU Revista**, Minas Gerais, v.37, n.3, p. 361-367, jul/set. 2012.

MARQUES, Marta Sousa de Sá. Caminhando para a cura da diabetes mellitus tipo 1. 2017. 33 f. Dissertação (Mestrado integrado em Medicina) – Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, Portugal, 2017.

MCLAUGHLIN, Kerry A. Et al.Relationships between major epitopes of the IA-2 autoantigen in type 1 diabetes: implications for determinant spreading. **Clinical Immunology**, United Kingdom, v.160, 226-236, jun. 2015.

MONTENEGRO, Renan; CHAVES, Mariana; FERNANDES, Regina. **Fisiologia pancreática: pâncreas endócrino**. ORIÁ, Reinaldo Barreto; BRITO, Gerly Anne de Castro. In: **Sistema digestório: integração básico-clínica**. 1.ed. São Paulo: Blusher, 2016. cap.20, p. 524-574. Disponível em: <https://openaccess.blucher.com.br/article-details/fisiologia-pancreatica-pancreas-endocrino-20129>. Acesso em 01 set 2018

MORALES, Alba E.; THRAILKILL, Kathryn. GAD-alum immunotherapy in Type 1 diabetes mellitus. **Drug Evaluation, USA**, v.3, n.3, p. 323 – 332. 2011.

MUNANG, Yvonne Nangeh et al. Reproducibility of the 75g oral glucose tolerance test for the diagnosis of gestational diabetes mellitus in a sub-Saharan African population. **Biomed Central**, Camerron, v.10, n. 622, p. 1-6. 2017.

NETTO, Augusto Pimazoni et al. Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1c) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. **Bras Patol Med Lab**, São Paulo, v.45, n.1, p. 31-48, fev. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/244928765_Atualizacao_sobre_hemoglobina_glicada_HbA1C_para_avaliacao_do_controle_glicemico_e_para_o_diagnostico_do_diabetes_aspectos_clinicos_e_laboratoriais>. Acesso em: 10 agosto 2018.

NOVÁS, José Díaz; MACHADO, Barbara Gallego; GONZÁLEZ, Aracelys León. El diagnóstico médico: bases y procedimientos. **Revista Cubana de Medicina General Integrada**. Cuba, v.22, n.1, abr. 2006.

NUNES, Roberta; DE CORDOVA, Caio Mauricio Mendes. Citocinas de resposta Th1 e Th2 e diabetes mellitus tipo 1. São Paulo Brasil, v.47, p.359-364. 2017. Disponível em: <<http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2018/01/RBAC-vol-49-4-2017-revista-completa.pdf#page=46>>. Acesso em 12 junho 2018.

NEVES, C. et al. Diabetes melitus tipo 1. Porto Portugal, v.12, n.4, p. 159-167. 2017. Disponível em :< <http://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2018/02/RPD-Vol-12-n%C2%BA-4-Dezembro-2017-Artigo-Revis%C3%A3o-p%C3%A1g-159-167.pdf.pdf>>. Acesso em; 16 junho 2018.

PALMEIRA, Catia Suely; PINTO, Sayonara Rocha. Perfil epidemiológico de pacientes com Diabetes Mellitus em Salvador, Bahia, Brasil (202-2012): **Revista Baiana de Enfermagem, Salvador**, v. 29, n. 3, p. 240-249. jul./set 2015 . Disponível em: <https://portalseer.ufba.br/index.php/enfermagem/article/view/13158/pdf_7>. Acesso em 09 dezembro 2017.

ROSS, Michael H.; PAWLINA, Wojciech. **Histologia Texto e Atlas: Correlações com Biologia Molecular**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 983 p.

SALAS P.,Francisca et al. Frecuencia de anticuerpos anti-ZnT8 em diabéticos tipo 1. **Revista Chilena de Endocrinologia**, Chile, v.5, n.3, p.111-114. 2012.

SESTERHEIM, Patricia; SAIROVITCH, David; STAUB, Henrique L. Diabetes mellitus tipo 1: multifatores que conferam suscetibilidade à patogénia auto-imune. Porto alger, v.17, n.4, p.212-217. Dez. 2007. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientiamedica/article/viewFile/1654/2631>>. Acesso em: 5 maio 2018.

SHIVAPRASAD, C et al. Zinc transporter-8 autoantibodies can replace IA-2 autoantibodies as a serological marker for juvenile onset type 1 diabetes in India. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, Índia, v.18,n.3, p. 345-349, Mai. 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diabetes.org.br**. Disponível em: <<http://bibliofarma.com/diretrizes-sbd-2015-2016/>>. Acesso em: 6 dezembro 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diabetes.org.br**. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/diabetes-tipo-2/010-Diretrizes-SBD-Methodos-para-Avaliacao-pg110.pdf>>. Acesso em: 3 ago 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diabetes.org.br**. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>>. Acesso em: 3 ago 2018.

SUMITA, Nairo Massakazu; ANDRIOLO, Adagmar. Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes mellitus e na avaliação de risco das complicações crônicas. **Bras Patol Med Lab**, São Paulo, v.44, n. 3, p. 169-174, jun. 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442008000300003>. Acesso em: 4 agosto 2018.

TAKEYAMA, Natsumi et al. Localization of insulinoma associated protein 2, IA—2 in mouse neuroendocrine tissues using two novel monoclonal antibodies. **Life Sciences**, Japan, v.84, n.2009, p.678-687. 2009.

TOWNS, Roberto; PIETROPAOLO, Massimo. GAD65 autoantibodies and its role as biomarker of type 1 diabetes and Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA). **Druga future**, Michigan, v. 36, n.11, p. 2- 14, nov. 2011.

VOLTARELLI, Julio C. et al. Terapia celular no diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São Paulo Brasil, v.31, n.1, p.149-156. 2008.

WENZLAU, Janet M. et al. A Common Nonsynonymous Single Nucleotide Polymorphism in the SLC30A8 Gene Determines ZnT8 Autoantibody Specificity in Type 1 Diabetes. **BRIEF REPORT**, Estados Unidos da America, v.57, p. 2693-2697, Out. 2008.

WITT, Alana Rocha Schmidt et al. Marcadores imunológicos da diabetes mellitus do tipo 1: Revisão. **Revista Conhecimento Online**, Rio Grande do sul, v.2, n.3, p. 30-44. 2011. Disponível em: <http://www.feevale.br/site/files/documentos/pdf/58653.pdf>>. Acesso em: 4 maio 2018.

YI, Bo; HUANG, Gan; ZHOU, Zhiguang. Different role of zinc transporter 8 between type 1 diabetes mellitus and type 2 diabetes mellitus. **Journal of diabetes investigation**, Australia, v.7, n.4, p. 459-465, Jul. 2016.

YI, Lian; SWENSEN, Adam C.; QUIAN, Wei-Jun. Serum biomarkers for diagnosis and prediction of type 1 diabetes. **The End-to-End Journal**, Washington, p.1-24, Jul. 2018.