

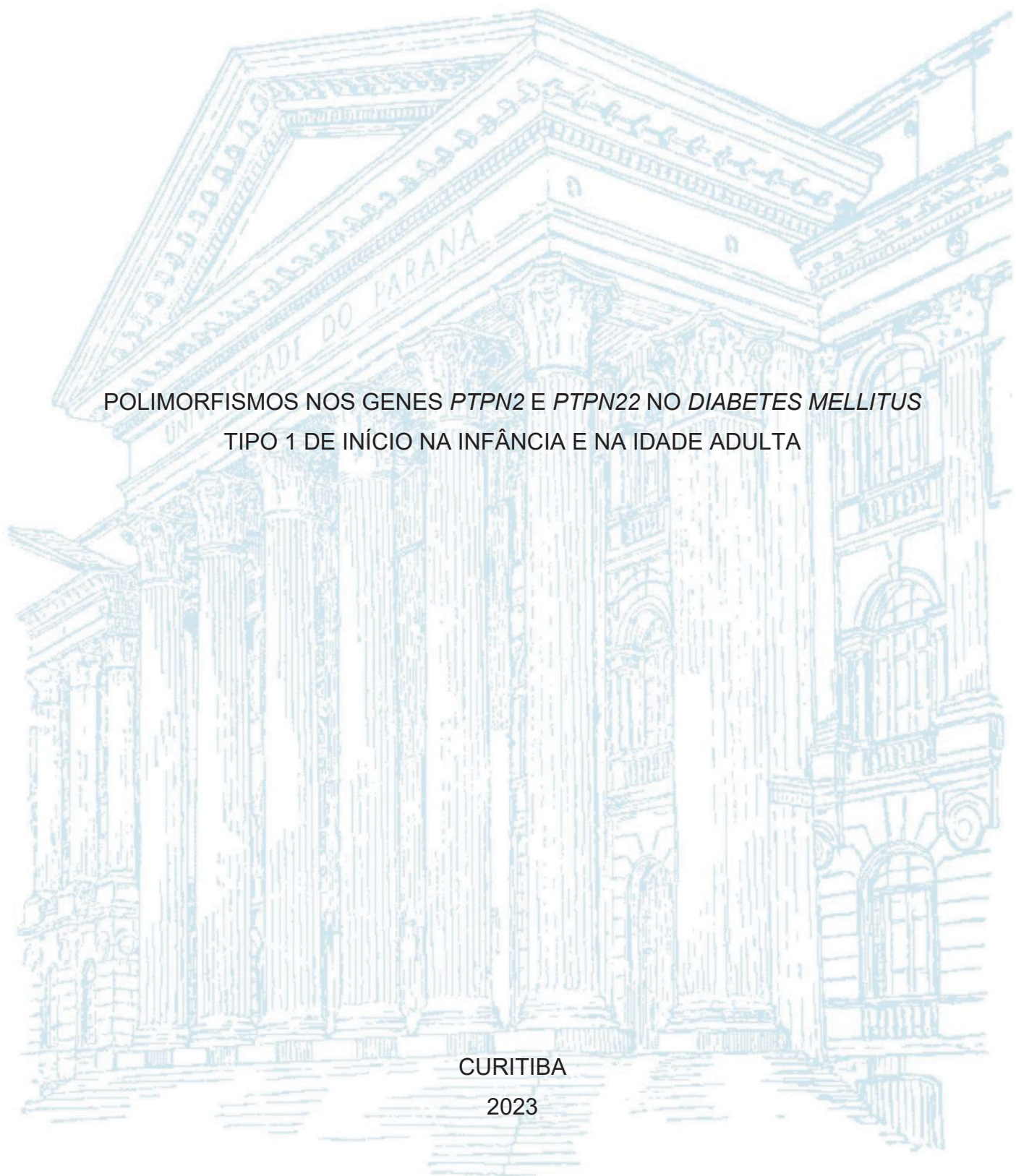
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIA LUIZA CLARINDO LOPES

POLIMORFISMOS NOS GENES *PTPN2* E *PTPN22* NO DIABETES MELLITUS
TIPO 1 DE INÍCIO NA INFÂNCIA E NA IDADE ADULTA

CURITIBA

2023



MARIA LUIZA CLARINDO LOPES

POLIMORFISMOS NOS GENES *PTPN2* E *PTPN22* NO *DIABETES MELLITUS*
TIPO 1 DE INÍCIO NA INFÂNCIA E NA IDADE ADULTA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador(a): Profa. Dra. Fabiane Gomes de Moraes Rego

Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Picheth

CURITIBA

2023

Lopes, Maria Luiza Clarindo

Polimorfismos nos genes PTPN2 e PTPN22 no Diabetes *mellitus* tipo 1 de início na infância e na idade adulta [recurso eletrônico] / Maria Luiza Clarindo Lopes – Curitiba, 2023.

1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Fabiane Gomes de Moraes Rego

Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Picheth

1. Diabetes *mellitus* tipo 1. 2. Insulina. 3. Proteínas tirosina fosfatases. 4. Genes. 5. Grupos de controle. I. Rego, Fabiane Gomes de Moraes. II. Picheth, Geraldo. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 616.4622



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MARIA LUIZA CLARINDO LOPES** intitulada: **POLIMORFISMOS NOS GENES *PTPN2* E *PTPN22* NO DIABETES MELLITUS TIPO 1 DE INÍCIO NA INFÂNCIA E NA IDADE ADULTA**, sob orientação da Profa. Dra. **FABIANE GOMES DE MORAES REGO**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 23 de Outubro de 2023.

FABIANE GOMES DE MORAES REGO
Presidente da Banca Examinadora

DAINESY SANTOS MARTINS
Avaliador Externo (FACULDADE PEQUENO PRÍNCIPE)

SUSAN WEBBER DE SOUZA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ)

Para Gabriel Eichelbaum.
Amor da minha vida. De corpo e alma.

AGRADECIMENTOS

Sou grata ao universo e a todos os acontecimentos que me trouxeram até aqui. Em uma passagem, a banda Oasis canta “*don’t look back in anger*”, frase que levo comigo no peito. Sou grata por tudo de bom que me aconteceu, e aprendi também a respeitar e entender que tive que passar por momentos difíceis para que pudesse alcançar um objetivo maior. Eu não sou o que me aconteceu, eu sou aquilo que eu escolho me tornar. Sou fruto das minhas escolhas, da minha resiliência. Todos os dias, eu escolho ser feliz.

No momento dessa conquista tão importante, quero demonstrar minha gratidão ao meu esposo, meu amor de alma. Tenho um peito que dentro só cabe teu nome, e medo nenhum quando penso em você. Você é minha força, meu *purpose*. Nossos caminhos se cruzaram tantos anos atrás, mas as borboletas no estômago toda vez que o vejo permanecem aqui comigo. Você, Gabriel, é o mais bonito que meus olhos já viram, é o que eu tenho de bom nessa vida. Você é meu lar, o motivo do meu sorriso, por quem eu lutarei sempre. Obrigada por construir uma família comigo, nossa familinha, que é pequena, mas que amor tem de sobra.

Um agradecimento curto, mas igualmente especial, à Amora, pois foi ela quem me resgatou.

Gostaria de prestar um agradecimento especial às minhas irmãs. Luma, que mesmo de longe, 9.608 km para ser exata, não se deixa faltar em nenhum momento, se fazendo presente sempre em meus pensamentos e no meu coração. A você devo muito, Luminha. Anna Clara, minha irmãzinha, aquela que compartilha o mesmo neurônio comigo. Obrigada por tanto, pelo amor que você demonstra do seu jeito, e que eu aceito de peito aberto. Muito obrigada meninas, por tudo, por tanto.

Agradeço a minha mãe, Luciane, que é uma força da natureza, a quem devo o dom da vida e tantas outras coisas. É uma honra para mim, carregar o nome da minha avó Maria. Obrigada por tudo, mãezinha, tudo mesmo. Por nunca deixar faltar nada, nem comida e nem amor. Obrigada por encher a casa de livros, música e diversão. Você teve tanta coragem, fez tanto por nós três. A você, minha eterna gratidão.

Um muito obrigada especial aos meus tios Adrian e Carol, por tantas tardes rindo, pela companhia boa de sempre. Muito obrigada aos meus tios e compadres, Adriel e Érica, que me conhecem a vida toda e ainda permanecem aqui. A vocês quatro também devo um agradecimento especial pela vida dos meus primos queridos, João Pedro, Ana Beatriz e Selenia, que eu tanto amo e quero bem.

Agradeço as minhas amigas maravilhosas, Letícia Horn, Letícia Falcão e Amanda, que sempre se fazem presente. Minha amiga Vitória Ferreira, que eu sinto tanta falta da convivência diária. Sou muito grata pela amizade de vocês.

Agradeço aos membros do Grupo de Pesquisa em Doença Metabólicas e aos amigos que fiz na universidade. Agradeço a companhia, aos ensinamentos que não foram poucos, por cada almoço no RU, por cada momento feliz que me proporcionara. Paula, Loly, Bruna de Paula, William, Chris, Karla, Luciano, Pedro, Nathalia, Leonardo, à vocês, meu muito obrigada. Agradeço ao Mateus, que fez muito mais do que me ensinar as técnicas do laboratório. Tantos foram os almoços, as idas ao politécnico, as conversas e risadas que compartilhamos e que tornaram o mestrado tão mais leve. A você meu amigo, meu muito obrigada, por tudo.

Dedico um agradecimento especial às incríveis professoras que tive o prazer de conhecer durante o mestrado. Minha orientadora, professora Dr^a Fabiane, pela oportunidade de ingressar no GPDM. Meu muito obrigada à professora Dr^a Amanda, que me acolheu no estágio em docência e tanto me ensinou. Agradeço às professoras Dr^a Astrid, Dr^a Helena, Dr^a Denise e Dr^a Karina, que ministraram disciplinas com tanta maestria. Foi uma honra aprender com vocês e ter como exemplo tantas mulheres na ciência.

Agradeço à Universidade Federal do Paraná, pela estrutura, pelo acolhimento, por fornecer educação pública e de qualidade a todos. Agradeço a todos os funcionários da UFPR, de modo especial aos colaboradores do Restaurante Universitário, e aos servidores encarregados pela limpeza e manutenção do campus. Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade de ingressar em um programa de mestrado com tanto impacto científico. Tenho orgulho de fazer parte dessa instituição. Agradeço também às agências de fomento, de modo especial a CAPES, pelo respaldo financeiro durante o período do mestrado.

*"I just wanted you to know,
that this is me trying.
At least I'm trying."*

Taylor Swift

RESUMO

O *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) é uma condição crônica autoimune que causa elevada concentração plasmática de glicose. Isso ocorre devido à produção inadequada de insulina pelas células β -pancreáticas. Esta doença é influenciada por diversos fatores genéticos e ambientais, e através de um processo autoimune, resulta na destruição das células β -pancreáticas. Proteínas tirosina fosfatases desempenham papéis cruciais no metabolismo e podem atuar como reguladoras da homeostase do fígado, da ingestão de alimentos ou da morte celular pancreática imuno mediada. Polimorfismos genéticos específicos nos genes que codificam as proteínas tirosina fosfatases estão associados a risco alterado de DM1. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os parâmetros bioquímicos e os dados antropométricos com os polimorfismos rs1893217 e rs6679677 dos genes *PTPN2* e *PTPN22*, respectivamente, bem como avaliar se a presença desses polimorfismos confere predisposição, ou proteção, ao DM1. Este estudo tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Paraná (CAAE 01038112.0.0000.0102 e CAAE 24676613.6.0000.0102) e a amostra do estudo consistiu em 131 DM1 de início na fase adulta (diagnóstico de DM1 após os 18 anos de idade), 154 DM1 de início na fase da infância (diagnóstico de DM1 antes dos 14 anos) 147 adultos saudáveis e 169 crianças saudáveis (controles) pareados por idade e gênero. A genotipagem dos polimorfismos rs1893217 e rs6679677 foi realizada utilizando sondas fluorescentes TaqMan®. As frequências de ambos os polimorfismos estão dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg. O alelo G de menor frequência (95%IC) para o polimorfismo rs1893217 do gene *PTPN2* para os grupos DM1 adulto, controle adulto, DM1 infância e controle crianças foram respectivamente 13,7% (10-18%), 13,6% (10-18%), $P = 0,963$, 16,9% (13-21%), e 12,7% (9-16%), $P = 0,163$. Para o polimorfismo rs6679677 do gene *PTPN22* o alelo A apresentou as frequências de 13,3% (10-17%) e 13,9% (10-18%), $P=0,826$ respectivamente para os grupos DM1 adulto, controle adulto. Houve diferença estatisticamente significativa nas frequências genotípicas ($P = 0,018$), alélicas ($P = 0,027$) e para o modelo recessivo ($P = 0,006$) entre os grupos controle e DM1 na população infanto-juvenil. Esses dados evidenciam que o polimorfismo rs6679677 do gene *PTPN22* está associado ao risco ao DM1 de início na infância. Portadores do alelo A tem risco 1,59 vezes maior de desenvolver DM1 com razão de chance (OR = 1,59; IC 95% 1,05-2,41), quando comparado aos portadores do alelo C. Contudo, não houve associação deste polimorfismo ao risco para DM1 de início na fase adulta ($P = 0,455$). O polimorfismo rs1893217 não foi associado ao DM1 de início na infância ($P = 0,337$) e na fase adulta ($P = 0,963$). As frequências dos alelos menos frequentes dos polimorfismos rs1893217 e rs6679677 foram similares nos grupos controle e DM1 descrita para algumas populações Europeias. Não houve correlações entre os polimorfismos estudados com parâmetros bioquímicos e antropométricos nos grupos em estudo.

Palavras-chave: *Diabetes mellitus* tipo 1; rs1893217; rs6679677; *PTPN2*; *PTN22*.

ABSTRACT

Type 1 *Diabetes mellitus* (T1DM) is a chronic autoimmune condition that leads to high plasma glucose levels. This occurs due to insufficient insulin production by pancreatic β -cells. The disease is influenced by various genetic and environmental factors and, through an autoimmune process, results in the destruction of β -pancreatic cells. Tyrosine phosphatase proteins play crucial roles in metabolism and can act as regulators of liver homeostasis, food intake, or immune-mediated pancreatic cell death. Specific genetic polymorphisms in tyrosine phosphatase protein-encoding genes are associated with altered T1DM risk. The aim of this study was to assess the relationship between biochemical parameters and anthropometric data with the rs1893217 and rs6679677 polymorphisms in the PTPN2 and PTPN22 genes, respectively, as well as to evaluate whether the presence of these polymorphisms confers predisposition or protection against T1DM. This study was approved by the Research Ethics Committee (CEP) of the Federal University of Paraná (CAAE 01038112.0.0000.0102 and CAAE 24676613.6.0000.0102), and the study sample consisted of 131 T1DM cases with adult onset (diagnosis after 18 years of age), 154 T1DM cases with childhood onset (diagnosis before 14 years of age), 147 healthy adults, and 169 healthy children (controls) matched for age and gender. Genotyping of the rs1893217 and rs6679677 polymorphisms was performed using TaqMan® fluorescent probes. The frequencies of both polymorphisms are in Hardy-Weinberg equilibrium. The lower-frequency G allele (95% CI) for the rs1893217 polymorphism of the PTPN2 gene in the adult T1DM, adult control, childhood T1DM, and childhood control groups were, respectively, 13.7% (10-18%), 13.6% (10-18%), $P = 0.963$, 16.9% (13-21%), and 12.7% (9-16%), $P = 0.163$. For the rs6679677 polymorphism of the PTPN22 gene, the A allele had frequencies of 13.3% (10-17%) and 13.9% (10-18%), $P = 0.826$, respectively, in the adult T1DM and adult control groups. There was a statistically significant difference in genotypic frequencies ($P = 0.018$), allelic frequencies ($P = 0.027$), and for the recessive model ($P = 0.006$) between the control and T1DM groups in the pediatric population. These data indicate that the rs6679677 polymorphism of the PTPN22 gene is associated with an increased risk of childhood-onset T1DM. Carriers of the A allele have a 1.59-fold higher risk of developing T1DM with an odds ratio (OR) of 1.59 (95% CI 1.05-2.41) when compared to C allele carriers. However, there was no association of this polymorphism with the risk of adult-onset T1DM ($P = 0.455$). The rs1893217 polymorphism was not associated with childhood-onset ($P = 0.337$) or adult-onset T1DM ($P = 0.963$). The frequencies of the less common alleles for the rs1893217 and rs6679677 polymorphisms were similar in the control and T1DM groups, as reported for some European populations. There were no correlations between the studied polymorphisms and biochemical or anthropometric parameters in the study groups.

Key-words: Type 1 *Diabetes mellitus*; polymorphisms; PTPN2; PTPN22.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESTIMATIVAS PARA O NÚMERO DE PESSOAS COM <i>Diabetes mellitus</i> ATÉ 2045, SEGUNDO O IDF.....	28
FIGURA 2 – FISIOPATOLOGIA DO DM1 DE INÍCIO NA INFANCIA, ADOLESCENCIA E IDADE ADULTA.....	47
FIGURA 3 - MODELO CONCEITUAL PARA DISTRIBUIÇÃO DOS ENDOTIPOS DO <i>Diabetes mellitus</i> TIPO 1 POR IDADE DE INÍCIO.....	55
FIGURA 4 – FLUXOGRAMA DO ALGORITMO PARA INVESTIGAÇÃO DE SUSPEITA DE <i>Diabetes mellitus</i> TIPO 1 EM ADULTOS RECÉM DIAGNOSTICADOS, COM BASE EM DADOS DE POPULAÇÕES BRANCAS EUROPEIAS	67
FIGURA 5 – LOCALIZAÇÃO DO GENE <i>PTPN2</i> NO CROMOSSOMO 18	75
FIGURA 6 – LOCALIZAÇÃO DO GENE <i>PTPN22</i> NO CROMOSSOMO 1 E DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA ESTRUTURA GENÉTICA DE TRÊS ISOFORMAS DE LYP	82
FIGURA 7 – EVENTOS DE TRANSDUÇÃO DE SINAIS APÓS RECONHECIMENTO DE ANTÍGENOS PELO RECEPTOR DE CÉLULAS T (TCR)	83
FIGURA 8 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA VIA REGULATÓRIA SUGERIDA CONTROLADO POR <i>PTPN2</i> E <i>PTPN22</i> EM CÉLULAS β E CÉLULAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO.	86
FIGURA 9 – FLUXOGRAMA PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA CIENTÍFICA	89

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO DO <i>Diabetes mellitus</i>	24
QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS DO DM1E1 E DM1E2	50
QUADRO 3 – CARACTERÍSTICAS DO DM1E1 E DM1E2	54
QUADRO 4 – FORMAS NÃO CLÁSSICAS DE <i>Diabetes mellitus</i> COM CARACTERÍSTICAS DE DM1 E DM2	59
QUADRO 5 – VOLUMES ESTABELECIDOS DE REAGENTES PARA A REAÇÃO DE PCR EM TEMPO REAL	95
QUADRO 6 – CONDIÇÕES ESTABELECIDAS DE TEMPO E TEMPERATURA PARA A REAÇÃO DE PCR EM TEMPO REAL	95

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS AVALIADOS NO GRUPO CONTROLE E DE CRIANÇAS COM DM1	92
TABELA 2 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS AVALIADOS NO GRUPO CONTROLE E DE ADULTOS COM DM1	92
TABELA 3 – CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO TIPO SNP ESTUDADOS.....	94
TABELA 4 – DADOS ANTROPOMÉTRICOS PARA OS GRUPOS COMPOSTOS POR CRIANÇAS.....	98
TABELA 5 – DADOS ANTROPOMÉTRICOS PARA OS GRUPOS COMPOSTOS POR ADULTOS	101
TABELA 6 – CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DOS BIOMARCADORES ANALISADOS PARA OS GRUPOS INFANTO-JUVENIL	104
TABELA 7 – COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DO POLIMORFISMOS rs1893217 (A>G) DO GENE <i>PTPN2</i> COM DADOS DA LITERATURA	114
TABELA 8 FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS PARA O POLIMORFISMO rs6679677 NO GRUPO INFANTO-JUVENIL.....	116
TABELA 9 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS PARA O POLIMORFISMO rs6679677 NO GRUPO COMPOSTO POR ADULTOS.....	117
TABELA 10 – COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DO POLIMORFISMOS rs6679677 (C>A) DO GENE <i>PTPN2</i> COM DADOS DA LITERATURA	118

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

1,5 AG	1,5 anidroglucitol
3HB	3- β -hidró-xidobutirato
AcAc	Acetoacetato
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AIJ	Artrite idiopática juvenil
ALT	Alanina amino transferase
ANOVA	Análise da Variância
APCs	<i>Antigen Presenting Cells</i> ; Células apresentadoras de antígenos
AST	Aspartato amino transferase
AVE	Acidente vascular encefálico
HbA1c	Hemoglobina glicada
CAD	Cetoacidose diabética
CHC	Complexo Hospital de Clínicas da UFPR
DAC	Doença arterial coronariana
DCCT	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
DCs	Células dendríticas
DCNTs	Doenças crônicas não transmissíveis
DII	Doença inflamatória intestinal
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DM1	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1
DM1E1	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 endotipo 1
DM1E2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 endotipo 2
DM1A	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1A
DM1B	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1B
DM2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
DMG	<i>Diabetes mellitus</i> gestacional
DNCTs	Doenças crônicas não transmissíveis
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos trifosfato
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> ; Ácido etilenodiamino tetra-acético
EHH	Estado hiperglicêmico hiperosmolar
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>

GAD65	<i>Glutamic acid decarboxylase</i>
Gama-GT	Gama glutamil transferase
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada fração A1C
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> ; Lipoproteína de alta densidade
HIPs	<i>Hybrid Insulin Peptides</i> ; Peptídeos de insulina híbridos
HLA	<i>Human leukocyte antigens</i> ; Antígeno leucócito humano
H-W	Equilíbrio de <i>Hardy-Weinberg</i>
IAA	<i>Insulin autoantibodies</i>
IA2A	<i>Insulinoma-associated autoantigen 2</i>
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IC	Intervalo de confiança
ICA512	<i>Islet cell antibody 512</i>
IDF	<i>International Diabetes Federation</i> ; Federação Internacional do Diabetes
IFNs	Interferons tipo I
IMC	Índice de massa corporal
ISPAD	<i>International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes</i> ;
LADA	<i>Latent autoimmune diabetes of the adult</i> ; Diabetes autoimune latente do adulto
LcK	Proteína tirosina quinase
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i> ; Lipoproteína de baixa densidade
LFA-1	<i>Lymphocyte Function-associated Antigen-1</i> ; Antígeno 1 associado à função do linfócito
Lyp	<i>Lymphoid-tyrosine phosphatase</i>
MAF	<i>Minor allele frequency</i> ; Alelo de menor frequência
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i> ; Complexo principal de histocompatibilidade
MODY	<i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i> ; Diabetes de início na maturidade dos jovens
MS	Ministério da Saúde

NGSP	<i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i>
NK	<i>Células natural killer</i>
NOD	<i>Nonobese diabetic</i> ; Diabético não obeso
nPOD	<i>network for Pancreatic Organ Donors with diabetes</i> ; Rede para Doadores de Órgãos Pancreáticos com Diabetes
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
pMHC	<i>peptide Major Histocompatibility Complex</i> ; peptídeos cognatos do Complexo Principal de Histocompatibilidade
PTKs	<i>Protein Tyrosine Kinases</i> ; Proteínas tirosina quinases
PTPs	<i>Protein Tyrosine Phosphatases</i> ; Proteínas tirosina fosfatases
PTPN	<i>Protein tyrosine phosphatasis nonreceptor</i> ; Proteína tirosina fosfatase não receptora
PTPN2	<i>Protein tyrosine phosphatasis nonreceptor-type 2</i> ; Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 2
PTPN22	<i>Protein tyrosine phosphatasis nonreceptor-type 22</i> ; Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 22
rs	<i>Reference sequence</i> - Polimorfismos nucleotídeo único
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SEMPR	Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da UFPR
SNPs	<i>Single nucleotide polymorphisms</i> ; Polimorfismos de nucleotídeo único
SPIDDM	<i>Slowly progressive type 1 insulin-dependent Diabetes mellitus</i> ; <i>Diabetes mellitus</i> dependente de insulina tipo 1 lentamente progressivo
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i> ; Transdutor de sinal e ativador da transcrição
SUS	Sistema Único de Saúde
T1DM	<i>Type 1 Diabetes mellitus</i> ; <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1
TEDDY	<i>The Environmental Determinants of Diabetes in the Young</i> ; Determinantes Ambientais do Diabetes nos Jovens
TCF7L2	<i>Transcription factor 7-like 2</i> ; Fator de transcrição 7 tipo 2
TNF	Fator de necrose tumoral
TOTG	Teste de tolerância a glicose

UPR	<i>Unfolded Protein Response</i> ; Resposta a proteína mal enovelada
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UTI	Unidade de terapia intensiva
VNTR	<i>Variable number of tandem repeats</i> ; Número variável de repetições em tandem
ZnT8	Anticorpo antitransportador de zinco 8

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 OBJETIVOS	22
1.1.1 Objetivo geral	22
1.1.2 Objetivos específicos.....	22
2 REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 <i>Diabetes mellitus</i>	23
2.1.1 Epidemiologia.....	27
2.1.2 Sinais, sintomas e complicações.....	30
2.2 <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	34
2.2.1 Fisiopatologia do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	35
2.2.2 Heterogeneidade e características clínicas do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 ..	43
2.2.3 Autoimunidade de ilhotas do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	45
2.2.4 Fatores metabólicos do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	48
2.2.5 Carga genética do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	49
2.2.6 Endotipos do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	51
2.2.6.1 Endotipos 1 e 2 do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1.....	52
2.2.6.2 Formas não clássicas de <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 com declínio lento da função das células β	57
2.2.6.3 Mecanismos patogênicos do DM2 em indivíduos com DM1E2.....	60
2.2.7 Diagnóstico do <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1.....	61
2.2.8 O <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 infanto-juvenil.....	63
2.2.9 O <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 na fase adulta	64
2.2.10 Genes envolvidos no <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1	70
2.3 FAMÍLIA DE GENES <i>PTPN</i>	71
2.3.1 <i>Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 2 (PTPN2)</i>	74
2.3.2 <i>Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22 (PTPN22)</i>	79
2.3.3 O papel dos PTPs na função das células β e das células imunológicas associadas ao DM1	84
3 MATERIAIS E MÉTODOS	88
3.1 AMOSTRAGEM	89
3.1.2 Processamento de amostras.....	90
3.2 DOSAGEM DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	91
3.3 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA GENÔMICO	93

3.4 VARIABILIDADES GENÉTICAS ESTUDADAS	94
3.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL COM SONDAS FLUORESCENTES TIPO Taqman®.....	94
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	96
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	97
4.1 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E ANTROPOMÉTRICA DA AMOSTRAGEM	97
4.1.1 Dados antropométricos avaliados nos grupos infanto-juvenil.....	97
4.1.1.1 Idade, sexo tempo de diabetes e idade de diagnósticos	98
4.1.1.2 Peso, altura, IMC e Z-score.....	99
4.1.1.3 Cetoacidose diabética (CAD)	99
4.1.2 Dados antropométricos avaliados nos grupos contendo adultos	101
4.1.2.1 Sexo, idade, idade de diagnóstico e tempo de diabetes	101
4.1.2.2 Peso, altura e ICM.....	102
4.1.2.3 Etnia	102
4.1.2.4 Tabagismo.....	102
4.1.2.5 Histórico de hipertensão e doença arterial coronariana	103
4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	104
4.2.1 Biomarcadores de controle glicêmico.....	106
4.2.2 Biomarcadores de perfil lipídico	107
4.2.3 Biomarcadores de perfil nutricional	109
4.2.4 Biomarcadores de função renal.....	110
4.2.5 Biomarcadores de função hepática	111
4.3 ANÁLISES MOLECULARES.....	111
4.3.1 Polimorfismo rs1893217 (A>G) do gene <i>PTPN2</i>	112
4.3.2 Polimorfismo rs6679677 (C>A) do gene <i>PTPN22</i>	116
5 CONCLUSÕES	121
REFERÊNCIAS.....	122
ANEXO 1 – PARECER DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA	157
ANEXO 2 – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DE DIABÉTICOS ACIMA DE 12 ANOS E MENORES DE 18 ANOS.....	161
ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) DE COLETA DE DADOS.....	163

**ANEXO 4 – GRÁFICO DE AMPLIFICAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA
POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA O POLIMORFISMO rs1893217... 165**

**ANEXO 5 – GRÁFICO DE AMPLIFICAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA
POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA O POLIMORFISMO rs6679677... 166**

1 INTRODUÇÃO

Dentre as doenças crônicas mais comuns na sociedade atual, o *Diabetes mellitus* (DM), cujo sintoma característico é a hiperglicemia, afeta cerca de 583 milhões de pessoas no mundo (IDF Diabetes Atlas, 2021). Somente no Brasil, em 2021, existiam cerca de 17 milhões de pessoas com a condição metabólica (IDF Diabetes Atlas, 2021).

O DM é uma doença com etiopatologias diversas, variando desde uma disfunção autoimune até a resistência perante a ação do hormônio insulina. Nesse contexto, o DM que afeta diretamente a utilização de carboidratos como fonte de energia, implicando também em alterações no metabolismo de lipídios e proteínas (GABBAY; RODACKI; CALLIARI; VIANNA *et al.*, 2020). Assim, o DM é definido como um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos, que implicam na alteração da homeostase de diversas funções do organismo (DAGOGO-JACK, 2004; GUTHRIE; GUTHRIE, 2004).

O *Diabetes mellitus* tipo 1A (DM1), doença em foco no presente estudo, caracteriza-se pela presença de autoanticorpos nos portadores da condição, sendo essa, portanto, uma doença de cunho autoimune. Esta doença pode afetar pessoas de qualquer idade, geralmente se desenvolve em crianças ou adultos jovens (DUE-CHRISTENSEN; BRUUN; JOENSEN; NORGAARD *et al.*, 2023).

Há muito tempo se pensava que o DM1 era causado por deficiência tolerância ao antígeno devido à disfunção tímica, pois este é o caso de várias outras doenças autoimunes como Miastenia Graves, Addison e imunodeficiência combinada grave. No entanto, estudos recentes mostram que indivíduos saudáveis também têm células T CD8⁺ que são específicas para proteínas de células β (REDONDO; MORGAN, 2023). Portanto, o mecanismo de desenvolvimento da doença permanece indefinido. Existem muitas diferenças genéticas e fisiopatológicas entre os pacientes com *Diabetes mellitus* tipo 1.

Mais recentemente, tem-se aceitado mais amplamente a hipótese de que existam diferentes etiopatogênese que causam heterogeneidade (REDONDO; MORGAN, 2023) na doença, aumentando a complexidade e desafio de entender o DM1 e traduzir esse entendimento em estratégias de intervenção.

Além das diferenças na taxa de progressão da doença e imunopatologia associada à idade, existem diferenças entre pacientes em uma determinada idade relacionada. Por exemplo, a fatores *background* genético, como HLA-DR3 e/ou HLA-DR4 (*Human leukocyte antigens*; HLA) presença ou ausência de variantes “protetoras” do gene da insulina, *PTPN22* (*Protein tyrosine phosphatasis nonreceptor-type 22* - PTPN22), etnia e ancestralidade (REDONDO; GEYER; STECK; SHARP; WENTWORTH; WEEDON; ANTINOZZI; SOSENKO; ATKINSON; PUGLIESE; ORAM, 2018).

A condução do diagnóstico do *Diabetes mellitus* é inicialmente pautado em sinais e sintomas da doença, seguido da realização de exames laboratoriais. Como os polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphism* - SNP) são a forma mais comum de variações no genoma, sendo assim, podem auxiliar na identificação de biomarcadores informativos. A possibilidade de reconhecer diferentes formas de herança, de um gene ou segmentos do genoma, é uma ferramenta particularmente importante na pesquisa e prática clínica (ALTSHULER; DALY; LANDER, 2008).

Dentro de um contexto genômico do DM, pauta-se que as proteínas tirosina fosfatases (*Protein Tyrosine Phosphatases* - PTPs) são uma grande família de enzimas, que geralmente se opõem às ações das proteínas tirosina quinases (*Protein Tyrosine Kinases* - PTKs). Logo, sabe-se que polimorfismos genéticos específicos nos genes que codificam as PTPs estão associados ao risco alterado para o DM1 e DM2. Além disso, é sugerido que as PTPs desempenham papéis cruciais no metabolismo. Elas podem atuar como reguladoras da homeostase do fígado, da ingestão de alimentos ou da morte celular pancreática imunomediada. O entendimento das vias reguladas pelas PTPs fornecerá novas estratégias terapêuticas para o tratamento do diabetes (GURZOV; STANLEY; BRODNICKI; THOMAS, 2015).

Nessa conjuntura, o objetivo do presente estudo é avaliar a influência dos polimorfismos rs1893217 do gene *PTPN2* (*Protein tyrosine phosphatasis nonreceptor-type 2* - PTPN2) e rs6679677 do gene *PTPN22* no *Diabetes mellitus* tipo 1 de início na infância e fase adulta, em relação ao risco ou proteção para o DM1, bem como a influência da presença desses SNPs em marcadores bioquímicos e dados antropométricos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar polimorfismos de nucleotídeo único nos genes *PTPN2* e *PTPN22*, da família *PTPN*, em crianças e adultos com e sem *Diabetes mellitus* tipo 1, bem como a influência dessas variações genéticas em parâmetros bioquímicos e antropométricos.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs1893217 no gene *PTPN2*, em crianças e adultos euro-brasileiros com e sem *Diabetes mellitus* tipo 1;
- Determinar frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs6679677 no gene *PTPN22*, em crianças e adultos euro-brasileiros com e sem *Diabetes mellitus* tipo 1;
- Mensurar biomarcadores de controle glicêmico, perfil lipídico e nutricional em crianças e adultos euro-brasileiros com e sem *Diabetes mellitus* tipo 1;
- Avaliar possíveis associações entre os polimorfismos rs1893217 do gene *PTPN2* e rs6679677 do gene *PTPN22* com os dados antropométricos e biomarcadores bioquímicos, de crianças e adultos, euro-brasileiros com e sem *Diabetes mellitus* tipo 1.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Diabetes mellitus*

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), estão no topo da lista de principais causas de óbito e mazelas no mundo, sendo um dos maiores desafios da saúde pública do século XXI (KAUL; TARR; AHMAD; KOHNER *et al.*, 2012). Dentre as DCNTs, destaca-se o conjunto de desordens metabólicas de alta incidência, chamado de *Diabetes mellitus*.

O DM é uma doença de múltiplas causalidades, que afeta diretamente a utilização da glicose, lipídios e proteínas como fonte de energia, decorrente da falta absoluta ou relativa da secreção de insulina (CERIELLO; PRATTICHIZZO; PHILLIP; HIRSCH *et al.*, 2022; GABBAY; RODACKI; CALLIARI; VIANNA *et al.*, 2020). Em outra forma da doença, o organismo apresenta resistência na utilização do hormônio. Em ambos os casos, a glicemia encontra-se elevada.

Existem diferentes formas de DM, e cada uma delas requer um manejo terapêutico personalizado. A correta classificação e diagnóstico do DM implica no rastreamento e tratamento adequado dos portadores.

A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) recomenda a classificação baseada na etiopatologia do diabetes (RODACKI M.; TELES M.; GABBAY M.; MONTENEGRO R. *et al.*, 2022). Portanto, as principais e mais frequentes formas da doença são: o diabetes tipo 1 (DM1), que compreende os tipos A (DM1A) e B (DM1B), o diabetes tipo 2 (DM2), o diabetes gestacional (DMG) e os outros tipos de diabetes, que por sua vez são menos incidentes na população (ADA, 2023).

- ***Diabetes mellitus tipo 1 – DM1:*** É uma doença autoimune em que ocorre a destruição das células β pancreáticas produtoras de insulina (INSEL; DUNNE; ATKINSON; CHIANG *et al.*, 2015). Isso culmina a carência hormonal, que leva a impossibilidade de metabolizar a glicose. De acordo com a fisiopatologia da doença, o DM1 pode se desenvolver em qualquer faixa etária, sendo mais frequentemente diagnosticada em crianças e adolescentes (GILLESPIE, 2006).
- ***Diabetes mellitus tipo 2 – DM2:*** É a forma mais comum da doença, frequentemente associada ao estilo de vida. Devido a uma perda

progressiva não autoimune da secreção adequada de insulina das células β , frequentemente no contexto de resistência à insulina e síndrome metabólica (ADA, 2023). Essa condição está frequentemente associada à obesidade e ao envelhecimento. A instalação é lenta, fato esse que implica diretamente no diagnóstico tardio da condição (TAYLOR, 2013).

- **Diabetes mellitus gestacional – DMG:** Manifestação do diabetes diagnosticado no segundo ou terceiro trimestre de gravidez, em gestantes que não possuíam o diagnóstico claramente evidente antes da gestação (ADA, 2023). O DMG é muitas vezes indicativo de disfunção subjacente das células β (BUCHANAN; XIANG; KJOS; WATANABE, 2007), que confere um risco acentuado de desenvolvimento posterior de diabetes, geralmente – mas nem sempre – diabetes tipo 2, na mãe após o parto (KIM; NEWTON; KNOPP, 2002; NOCTOR; CROWE; CARMODY; SAUNDERS *et al.*, 2016).

O diagnóstico do DM é baseado em alterações plasmáticas das concentrações de glicose, em diferentes situações (prandiais e de jejum, ao acaso e após sobrecarga), e aferições da hemoglobina glicada (HbA1c) (ARAKI; TANAKA; INAGAKI; ITO *et al.*, 2021). Na ausência de hiperglicemia, os testes deverão ser repetidos para confirmação do resultado, a fim de verificar possíveis interferentes pré e pós-analíticos.

Os critérios preconizados pelas instituições responsáveis, para o diagnóstico da condição, estão descritos no Quadro 1 abaixo (ADA, 2023; RODACKI M.; TELES M.; GABBAY M.; MONTENEGRO R. *et al.*, 2022).

QUADRO 1 – CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO DO *Diabetes mellitus*

Glicemia ao acaso $\geq 200\text{mg/dL}$ (11,1mmol/L). Deve ser realizada em pacientes com sintomas clássicos ou em crise hiperglicêmica;

e/ou

Glicemia 2 horas após sobrecarga de 75g de glicose por via oral $\geq 200\text{mg/dL}$ ($11,1\text{mmol/L}$). O paciente não deve fazer alterações alimentares no período que precede o exame ¹ ;
e/ou
Glicemia em jejum $\geq 126\text{mg/dL}$ ($7,0\text{mmol/L}$). O jejum deve ocorrer num período mínimo de pelo menos 8 horas ¹ ;
e/ou
HbA1c $\geq 6,5\%$ (48mmol/mol). O teste deve ser realizado pelo método padronizado e certificado pelo <i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i> (NGSP) e nos padrões da <i>Diabetes Control and Complications Trial</i> (DCCT) ^{1 2} .

Critérios estabelecidos para o diagnóstico de *Diabetes mellitus*. ¹Perante a ausência de hiperglicemia inequívoca, o diagnóstico de diabetes com base nesses critérios deve ser confirmado por repetição de testes laboratoriais. Os resultados devem ser confirmados com repetição dos testes. ²Valores inferiores a 6,5% não excluem o diabetes diagnosticado por meio de testes de glicose. O papel da HbA1c no diagnóstico de DM1 em crianças não é claro, tendo em vista o princípio do método analítico, bem como o a idade de diagnóstico.

Fonte: Adaptado da Sociedade Americana de Diabetes (ADA, 2022), *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT), Sociedade Internacional de Diabetes Pediátrica e Adolescente (MAYER-DAVIS *et al.*, 2018).

Existem fatores contra e a favor das metodologias de diagnóstico estabelecidas. A glicemia em jejum ($\geq 140\text{mg/dL}$), por exemplo, é um teste com grande especificidade, mas pouco sensível para o diagnóstico do DM (ARAKI; TANAKA; INAGAKI; ITO *et al.*, 2021; NKONGE; NKONGE; NKONGE, 2020). Quase a totalidade dos indivíduos que apresentam glicemia em jejum $\geq 140\text{mg/dL}$, também apresentam glicemia 2 horas após sobrecarga de 75g de glicose na faixa de $\geq 200\text{mg/dL}$. A glicemia 2 horas após sobrecarga, sendo esse o teste de tolerância a glicose (TOTG), é um método mais preciso. Entretanto, esse exame também pode indicar diminuição da tolerância a glicose, ao invés do quadro diabético. Nesse contexto, indica-se a associação de testes para o diagnóstico de DM (FEIG; KEELY; WICKLOW, 2019; KALIDOSS; UMAPATHY, 2019).

A glicemia em jejum e a glicemia 2 horas após sobrecarga são igualmente apropriados para uma primeira triagem do diagnóstico. No entanto, deve-se considerar que esses testes podem não detectar o *Diabetes mellitus* nos mesmos indivíduos (CHRIST-CRAIN; WINZELER; REFARDT, 2021; TRITOS; BILLER, 2021). Estudos demonstram que as medidas para prevenção do *Diabetes mellitus* tipo 2, são eficientes em indivíduos com condições de

tolerância perante a glicose, tendo ou não a glicemia em jejum elevada (FEIG; KEELY; WICKLOW, 2019; KALIDOSS; UMAPATHY, 2019).

O teste de HbA1c apresenta as taxas de glicação de hemoglobina, nos últimos 90 a 120 dias. Sendo assim, esse exame fornece um parâmetro do passado, e não a situação glicêmica atual (KALIDOSS; UMAPATHY, 2019). A glicação da hemoglobina é um processo não-enzimático irreversível, que ocorre entre a proteína alguns açúcares, em um processo dependente do tempo e da concentração de glicose plasmática (KHAN; DEMIDOWICH; TSCHUDY; WEDLER *et al.*, 2023). A reação de glicação ocorre devido à alta permeabilidade da hemoglobina perante a glicose. Assim, o processo gera a ligação de uma molécula de glicose ao grupo amino terminal da hemoglobina A. Como resultado desse processo, a estrutura de HbA1c permanece no meio intracelular, indicando a concentração média de glicose no sangue nos últimos três a quatro meses (KHAN; DEMIDOWICH; TSCHUDY; WEDLER *et al.*, 2023).

Em relação ao teste supramencionado, é necessário salientar que as concentrações plasmáticas, mais recentes de glicose, são as mais influentes no processo de glicação. Sabe-se que 50% da HbA1c é formado no mês anterior ao da coleta e a outra parcela é dividida em 25% para cada mês subsequente (HALALAU; ROY; HEGDE; KHANAL *et al.*, 2023; LI; HAN; QI; DENG *et al.*, 2023). A dosagem da glicação da hemoglobina é de suma importância na avaliação do controle glicêmico, por representar a glicemia de um passado não tão distante. Todavia, uma vez que a decaída da glicemia pode ser rápida em pacientes com DM1, a HbA1c é menos sensível para o diagnóstico do que as dosagens de glicemia em jejum ou glicemia estimulada (BANJAR; ALYAFI; ALGHAMDI; ASSAGGAF *et al.*, 2023; LIN; WANG; JIA; WANG *et al.*, 2023).

A partir do rastreamento e diagnóstico correto do DM, o paciente é submetido a diferentes formas de manejo terapêutico. Entretanto, existem muitos adultos que vivem com DM não diagnosticado, principalmente quando se trata do DM2 (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). De acordo com a Federação Internacional do Diabetes (*International Diabetes Federation* - IDF), em 2021, existiam 5 milhões de adultos portadores de DM sem diagnóstico, no Brasil (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). A prevalência de indivíduos portadores, mas não diagnosticados, é alta e aproximadamente 25% deles tem evidência de complicações microvasculares no momento da identificação clínica (CRASTO; PATEL;

DAVIES; KHUNTI, 2021; GABRIEL; BOUKICHOU ABDELKADER; ACOSTA; GILIS-JANUSZEWSKA *et al.*, 2020). Tendo em vista esse contexto, em que muitos pacientes são diagnosticados em uma fase avançada da doença, sugere-se o acompanhamento de assintomáticos, principalmente aqueles que pertencem a grupos de risco para essa condição clínica (PUAVILAI; CHANPRASERTYOTIN; SRIPHRAPRADAENG, 1999).

Nessa perspectiva, com o intuito de aprimorar a assistência a portadores de DM, o Ministério da Saúde (MS), em 2002 desenvolveu o Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão arterial e ao *Diabetes mellitus*, com o objetivo de capacitar os profissionais da atenção básica e reformulação dos serviços. No mesmo ano, o Governo Federal criou Programa Nacional de Assistência Farmacêutica para Hipertensão Arterial e *Diabetes Mellitus*, que ampliou a base de dados para controle administrativo a nível de atenção básica (PEREIRA; ACURCIO FDE; GUERRA JUNIOR; SILVA *et al.*, 2012).

Na Política de Atenção ao Diabetes no Sistema Único de Saúde (SUS), constam ações de prevenção, diagnóstico, tratamento, capacitação profissional, vigilância e assistência farmacêutica, bem como de vigilância sanitária (PEREIRA; ACURCIO FDE; GUERRA JUNIOR; SILVA *et al.*, 2012). Desde 2006, por meio da promulgação da Lei Federal de nº11.347, pessoas com diabetes tem direito a receber via SUS materiais e insumos, utilizados no tratamento de DM. Medicamentos, seringas, agulhas, insulina, bem como os exames laboratoriais para acompanhamento da doença, são ofertadas pelo Estado para os acometidos pela condição clínica (BRASIL, 2006).

A partir da criação de políticas públicas direcionadas ao manejo da condição metabólica, somam-se esforços para ampliar a promoção a saúde, bem como o rastreamento precoce do *Diabetes mellitus* (IDF *Diabetes Atlas*, 2021).

2.1.1 Epidemiologia

Os dados epidemiológicos da ocorrência de diabetes são alarmantes. De acordo com o Atlas de Diabetes da IDF, em 2021 existiam 537 milhões de pessoas com DM. Até 2045, esse número pode chegar a 783 milhões,

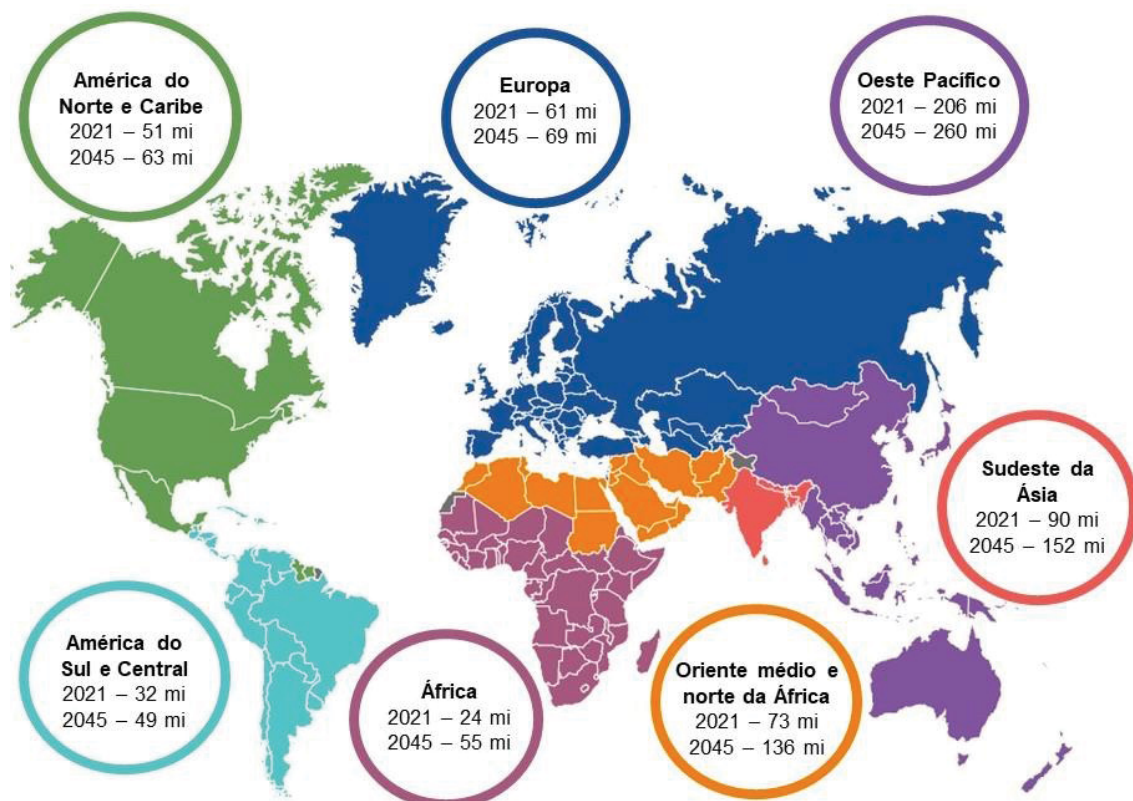
representando um aumento de 46% no número de pessoas com *Diabetes mellitus* (IDF *Diabetes Atlas*, 2021).

Nos continentes americanos, em especial na América Central e América do sul, estima-se que o número de indivíduos portadores de diabetes chegue a 49 milhões até 2045. Isso representa um aumento de 48% na ocorrência de DM (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). Com bases nesses dados, o IDF classifica o território brasileiro na sexta posição no *ranking* mundial, em número absoluto de pessoas com a doença em 2021 (IDF *Diabetes Atlas*, 2021).

De acordo com a IDF, estima-se que cerca de 240 milhões de pessoas vivem com diabetes sem o diagnóstico apropriado. Isso significa que 1 a cada 2 adultos, vive com a condição metabólica e não sabe. Ainda, 90% das pessoas portadoras do distúrbio, sem o devido diagnóstico, vivem em países subdesenvolvidos. Para o Brasil, a IDF indicou que 5 milhões de pessoas convivem com diabetes sem ter ciência da condição (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). No ano de 2021, de acordo com dados levantados pela IDF, o Brasil acumulava 15,7 milhões de pessoas diagnosticadas, entre 20 e 79 anos (IDF *Diabetes Atlas*, 2021).

A Figura 1 abaixo apresenta as estimativas, por regiões, do número de pessoas com diabetes para 2045.

FIGURA 1 – ESTIMATIVAS PARA O NÚMERO DE PESSOAS COM *Diabetes mellitus* ATÉ 2045, SEGUNDO O IDF



Número estimado de pessoas, entre 20 e 79 anos de idade, com diabetes nos anos de 2021 e 2045. Para a América do Norte e Caribe um aumento de 24% do número de pessoas com diabetes é esperado, enquanto para a Europa, o aumento esperado é de 13%. No Oeste Pacífico a taxa esperada é de 27%, seguido de 50% para a América do Sul e Central. Para o continente Africano, o aumento esperado é de 134%, e para o Oriente Médio e o Norte da África, essa taxa é de 87%. No Sudoeste da Ásia, o aumento esperado é de 68%. Segundo o IDF, em 2021 existem 537 mi de pessoas com DM1, e em 2045 esse número poderá ser de 783 mi, representando uma taxa de aumento de 46%. Mi: milhões.

Fonte: Adaptado da Federação Internacional de Diabetes (2021).

O crescente número de pessoas acometidas pelo diabetes, vai de encontro com outro dado muito pertinente. Hábitos de vida cada vez mais sedentários, aliados ao consumo em massa de alimentos industrializados e ultra processados, são fatores de risco para o desenvolvimento, bem como o agravamento, de doenças metabólicas (NASRALLAH; TAMIM; MAILHAC; ALBUHAIRAN, 2022).

De acordo com o supracitado, levando em consideração os hábitos de saúde e alimentação da sociedade contemporânea, o número de portadores de *Diabetes mellitus* tende a aumentar gradativamente (PANDEY; CHAWLA; GUCHHAIT, 2015). Segundo a IDF, o número de pessoas com diabetes tende a aumentar, chegando a 783 milhões de pessoas no mundo com a condição metabólica (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). Os dados divulgados pela IDF, para o

período de 2021, permitem uma elucidação mais clara da situação do diabetes na América do Sul e América Central.

De acordo com o levantamento, 1 entre 11 adultos apresenta *Diabetes mellitus*, e 121 mil crianças e adolescentes vivem com DM1 (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). Outro dado importante é em relação aos custos do DM. Em 2021, estimou-se que os gastos com a doença giram em torno de 42,9 bilhões de reais no Brasil. Em relação a mortalidade, os óbitos relacionados ao diabetes, totalizam 410 mil (IDF *Diabetes Atlas*, 2021). Isso reflete diretamente no aspecto socioeconômico brasileiro, pois o Estado fornece tratamento para a condição de diabetes, bem como para possíveis malefícios que a doença possa trazer.

Face a esse contexto e perspectiva epidemiológica, com tendências progressivas, haverá um acréscimo maciço dos impactos financeiros na saúde pública nos próximos anos (CAPOCCIA; ODEGARD; LETASSY, 2016; KAHM; LAXY; SCHNEIDER; ROGOWSKI *et al.*, 2018). Isso se deve ao custo agregado decorrente do manejo de complicações clínicas, bem como da redução de capacidade de trabalho em indivíduos em idade produtiva (JOISH; ZHOU; PREBLICK; LIN *et al.*, 2020; KURKELA; NEVALAINEN; ARFFMAN; LAHTELA *et al.*, 2022).

2.1.2 Sinais, sintomas e complicações

Os sinais e sintomas apresentados pelos pacientes estão frequentemente associados a disglycemia, tendo em vista que o aumento dos níveis glicêmicos no sangue é a característica fundamental do *Diabetes mellitus* (ACHARJEE; GHOSH; AL-DHUBIAB; NAIR, 2013; ALBERTI; ZIMMET, 1998).

Os quadros iniciais de DM geralmente são acompanhados, dos mais comuns para os mais raros: poliúria (micção excessiva), polidipsia (sede excessiva), perda de peso não intencional, polifagia (fome excessiva), turbidez na visão, fadiga, dificuldade na cicatrização de machucados e feridas, baixa demonstração de interesse em atividades rotineiras, falta de concentração, parestesia (sensação de formigamento), dormência nos membros e extremidades como mãos e pés e infecções frequentes (HARRIS, 1988; MCINERNEY; LINDEKILDE; NOUWEN; SCHMITZ *et al.*, 2022; PUAVILAI; CHANPRASERTYOTIN; SRIPHRAPRADAENG, 1999).

A hiperglicemia leva ao aumento da osmolaridade do fluído extracelular, o que provoca deslocamento hídrico do meio intracelular para o interstício (KAUL; TARR; AHMAD; KOHNER *et al.*, 2012).

A glicosúria ocorre quando a concentração de glicose na corrente sanguínea ultrapassa o limiar de renal de reabsorção glomerular, provocando diurese osmótica com intensa perda de água e eletrólitos (FAYFMAN; PASQUEL; UMPIERREZ, 2017).

A polidipsia decorre da depleção de água intracelular, devido à hiper osmolaridade pelo aumento crescente da glicemia com estímulo dos receptores osmóticos do centro de sede nos centros neurais (NIGRO; GROSSMANN; CHIANG; INDER, 2018). A deficiência de insulina altera o controle homeostático do metabolismo (PAPATHEODOROU; PAPANAS; BANACH; PAPAZOGLU *et al.*, 2016), implicando em mudanças no anabolismo promovido pelo hormônio insulina para catabolismo acentuado de proteínas e lipídeos, que tende a induzir um balanço de energia negativo, resultando no processo de polifagia (CERASI, 1991; GROOP; WIDEN; FERRANNINI, 1993).

O *Diabetes mellitus* tipo 1 e 2 apresentam quadros sintomáticos muito similares (KATSAROU; GUDBJORNSDOTTIR; RAWSHANI; DABELEA *et al.*, 2017; TAYLOR, 2013). Todavia, no tipo 2 da doença, esses sinais e sintomas são mais amenos, e, muitas vezes, inexistentes (IDF *Diabetes Atlas*, 2021).

O controle ineficaz das concentrações plasmáticas de glicose, aliado a hábitos de vida pouco saudáveis, tais como o sedentarismo, tabagismo e consumo de álcool são elementos que podem contribuir para o aparecimento de complicações micro e macrovasculares em pacientes com DM (VIIGIMAA; SACHINIDIS; TOUMPOURLEKA; KOUTSAMPASOPOULOS *et al.*, 2020).

As complicações de cunho macrovascular se referem a doença isquêmica do coração, doença de cerebrovascular e doença vascular periférica, afetam cerca de 50% das pessoas com *Diabetes mellitus* (HUANG; REFAAT; MOHAMMEDI; JAYYOUSI *et al.*, 2017; VIIGIMAA; SACHINIDIS; TOUMPOURLEKA; KOUTSAMPASOPOULOS *et al.*, 2020). Em pacientes com DM, o risco de eventos adversos de morte, devido a complicações crônicas macrovasculares, é três vezes maior do que na população que possui doenças cardiovasculares (TSCHIEDEL; MULLER; SCHARA; FELDERHOFF-MUSER *et al.*, 2015).

A característica que fundamenta o *Diabetes mellitus*, a hiperglicemia, de caráter crônico, gera danos ao endotélio vascular (KARUNAKARAN; PARK, 2013). Isso reflete-se de tal forma que podem surgir complicações nas terminações nervosas, retina e glomérulos renais, além de degeneração de órgãos vitais, como cérebro e coração (HUANG; REFAAT; MOHAMMEDI; JAYYOUSI *et al.*, 2017; VIIGIMAA; SACHINIDIS; TOUMPOURLEKA; KOUTSAMPASOPOULOS *et al.*, 2020).

Os vasos sanguíneos não regulam negativamente a captação de glicose em situações de hiperglicemia, o que as torna mais suscetíveis nas situações de excesso de glicemia (GIACCO; BROWNLEE, 2010; LUC; SCHRAMM-LUC; GUZIK; MIKOLAJCZYK, 2019). Os mecanismos que promovem danos vasculares por hiperglicemia partem de um ponto em comum, a produção exacerbada – a partir da reação de redução do oxigênio – estão de espécies reativas de oxigênio (EROs) (GIACCO; BROWNLEE, 2010).

Para manter a homeostase, a produção e eliminação das EROs ocorrem em equilíbrio, para inibir respostas acentuadas de proteção ou dano celular (KARUNAKARAN; PARK, 2013; LUC; SCHRAMM-LUC; GUZIK; MIKOLAJCZYK, 2019). Quando esse mecanismo não está em harmonia, como na hiperglicemia, as concentrações de EROs se tornam anormais, provocando estresse oxidativo (GIACCO; BROWNLEE, 2010; KARUNAKARAN; PARK, 2013; LUC; SCHRAMM-LUC; GUZIK; MIKOLAJCZYK, 2019; MARITIM; SANDERS; WATKINS, 2003). E na falta de compensação do estresse oxidativo, tecidos podem sofrer perda de função, devido ao dano causado às organelas celulares, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (KARUNAKARAN; PARK, 2013).

Os danos vasculares que resultam da exacerbação da produção de EROs podem levar a quadros de cegueira, falha renal, neuropatia, bem como distúrbios cardio e cerebrovasculares, como infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular encefálico (AVE) e doença arterial coronariana (DAC) (PAPATHEODOROU; PAPANAS; BANACH; PAPAZOGLU *et al.*, 2016).

A hiperglicemia é apenas um dos mecanismos que participam do aumento do risco de doença macrovascular nas pessoas com diabetes. Outros fatores como uso de tabaco, hipertensão arterial e dislipidemia estão envolvidos na probabilidade de desenvolver complicações (BOEHME; ESENWA; ELKIND,

2017). A aterosclerose é uma doença de cunho progressivo, multifatorial, que muitas vezes, precede a hiperglicemia. Logo, precede o diagnóstico clínico do diabetes (YAMAZAKI; HITOMI; NISHIYAMA, 2018).

Além das complicações crônicas o *Diabetes mellitus* também tem como resultado complicações de caráter agudo, como a cetoacidose diabética (CAD), causada pela descompensação do controle glicêmico, que apresenta taxa de mortalidade em pacientes com diabetes (CLAPIN; EARNEST; COLMAN; DAVIS *et al.*, 2022). A CAD é uma complicação típica do diabético tipo 1, que se desenvolve em uma situação de deficiência do hormônio insulina grave ou absoluta, comumente associada a condições estressantes (EVANS, 2019; GARCIA-DE JESUS, 2008; NYENWE; KITABCHI, 2016).

A base fisiopatológica da cetoacidose diabética e das alterações do equilíbrio acidobásico decorre do aumento da cetogênese hepática, aliada ao aumento da lipólise e maior mobilização de ácidos graxos na circulação (EVANS, 2019; GARCIA-DE JESUS, 2008; NYENWE; KITABCHI, 2016). Como os pacientes diabéticos não conseguem utilizar a glicose, devido a deficiência de insulina, os corpos cetônicos, acetoacetato (AcAc) e 3-β-hidroxibutirato (3HB), produzidos durante a cetogênese hepática, são produzidos como fontes energéticas alternativas (EVANS, 2019).

A hiperglicemia fundamental do DM, resultante da redução da utilização periférica de glicose, bem como o aumento da glicogenólise e neoglicogênese, justificam os sintomas típicos da CAD (FORESTELL; BATTAGLIA; SHARIF; ELTORKI *et al.*, 2023). Polidipsia, poliúria e vários graus de desidratação, são os sinais mais comuns em situações de cetoacidose diabética. É comum observar dor abdominal em pacientes com essa complicação. A CAD também pode chegar a hipovolemia acentuada e choque circulatório (CLAPIN; EARNEST; COLMAN; DAVIS *et al.*, 2022; FORESTELL; BATTAGLIA; SHARIF; ELTORKI *et al.*, 2023).

O estado hiperglicêmico hiper osmolar (EHH) também é uma complicação de cunho agudo, característica do *Diabetes mellitus* tipo 2, caracteriza-se por hiperglicemia, hiper osmolaridade e severa desidratação, particularmente do sistema nervoso central (TAYLOR, 2013). Também é uma descompensação grave do estado diabético, com alta taxa de mortalidade. O paciente clássico dessa complicação é idoso, e chega ao serviço de saúde por acentuação das

alterações de consciência, crises convulsivas e sintomas que sugerem acidente vascular encefálico (GIACCO; BROWNLEE, 2010; LEJLIC; HOLMAAS; LOVAS; UELAND, 2023).

As complicações relacionadas ao quadro diabético têm parcela na responsabilidade pelos agravos em saúde associados ao diabetes, bem como a redução da qualidade de vida, morbimortalidade e incapacitação temporária ou permanente desses indivíduos (PAPATHEODOROU; PAPANAS; BANACH; PAPAZOGLU *et al.*, 2016).

2.2 *Diabetes mellitus* tipo 1

Em relação ao DM1, existem formas distintas de manifestação desses distúrbios no organismo (INSEL; DUNNE; ATKINSON; CHIANG *et al.*, 2015; RICHARDSON; RODRIGUEZ-CALVO; GERLING; MATHEWS *et al.*, 2016; SZABLOWSKI; OKRUSZKO; POCHODOWICZ; ABRAMOWICZ *et al.*, 2022). De forma menos frequente, a perda das funções das células β do pâncreas ocorre de modo idiopático, sendo esse o *Diabetes mellitus* tipo 1B (PINERO-PILONA; RASKIN, 2001). Sem evidências claras de autoimunidade, a causa subjacente do DM1B ainda não é completamente compreendida e pode envolver mecanismos genéticos e/ou ambientais diferentes da forma autoimune (PINERO-PILONA; RASKIN, 2001; SZABLOWSKI; OKRUSZKO; POCHODOWICZ; ABRAMOWICZ *et al.*, 2022).

De forma mais recorrente, tem-se a forma autoimune do *Diabetes mellitus*, o DM1A (CLAESSENS; WESSELIUS; VAN LUMMEL; LABAN *et al.*, 2020). Ao contrário do que ocorre em outras doenças autoimunes, o DM1A é discretamente mais incidente em pessoas do sexo masculino. O desenvolvimento da doença é heterogêneo, e as características patogênicas, genéticas e fenotípicas sofrem muitas variações (ATKINSON; MACLAREN, 1994).

A evolução do DM1A não é aguda, mas sim, um processo lento de autoagressão, que possivelmente se desenvolve durante anos numa fase pré-clínica (CHRIST-CRAIN; WINZELER; REFARDT, 2021). O DM1A é o resultado de uma resposta autoimune perante a antígenos das células β do pâncreas. Em um dinamismo dependente da imunidade celular, mediado por linfócitos T, células *natural killer* (NK) e macrófagos, ocorre a insulite, ou seja, o processo de

destruição das células β -pancreáticas (CHRIST-CRAIN; WINZELER; REFARDT, 2021). A partir do comprometimento da secreção do hormônio insulina, o organismo apresenta os sinais da utilização ineficaz da glicose (HANDWERGER; FERNANDES; BROWN, 1980).

2.2.1 Fisiopatologia do *Diabetes mellitus* tipo 1

O *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) resulta da autoimunidade órgão específica, na qual elimina a maior parte das células β pancreáticas produtoras de insulina. Embora o papel da autoimunidade das ilhotas permaneça inquestionável, o papel das ilhotas como participantes ativos foram só recentemente elucidados (MALLONE; HALLIEZ; RUI; HEROLD, 2022). Anteriormente, acreditava-se que praticamente todas as células β eram perdidas no DM1. No entanto, agora está mais clara a existência de uma série de células β residuais que são disfuncionais em pessoas com diagnóstico recente de DM1 (SIMS; MIRMIRA; EVANS-MOLINA, 2020). Além disso, a disfunção das células α é reconhecida como uma característica proeminente da doença (YOSTEN, 2018).

De fato, os esforços sustentados da comunidade global de investigação no DM1 para compreender a base da autoimunidade dirigida pelas células T no DM1, foi fundamental para a aprovação pelo FDA (*Food and Drug Administration* -FDA) dos EUA da primeira imunoterapia para o DM1. O anticorpo anti-CD3 (Teplizumabe), atrasa o início sintomático do DM1 em 2–3 anos (HEROLD; BUNDY; LONG; BLUESTONE *et al.*, 2019), abrindo a porta para a futura aplicação clínica de abordagens específicas de antígeno com propriedades imuno reguladoras potencialmente superiores (SERRA; SANTAMARIA, 2019).

Apesar dessa conquista, a completa compreensão de como a autoimunidade das ilhotas, se origina e se propaga durante o desenvolvimento do DM1, e porque ele é tão heterogêneo entre os indivíduos, ainda está longe.

Em camundongos NOD (*Nonobese diabetic*; Diabético não obeso), foram feitas as seguintes observações: o desenvolvimento do DM1 requer células T CD4⁺ e CD8⁺; células T autorreativas diferenciadas em assassinas ao interagir com antígenos de células β em células apresentadoras de antígenos locais;

células T CD8⁺ desempenham papel principal como assassinas de células β (SANTAMARIA, 2010; TSAI; SHAMELI; SANTAMARIA, 2008).

Estudos imunohistopatológicos de pâncreas de indivíduos com DM1 são geralmente compatíveis com estas observações feitas em ratos, mas expuseram fenômenos adicionais peculiar à história natural da doença em humanos. Em particular, o diálogo entre as células T e as células β é muito mais complexo em humanos e evidências recentes apoiam potenciais endotipos (ou seja, subtipos da doença, cada uma das quais com uma etiopatogenia distinta) de DM1 com base na idade de início (BATTAGLIA; AHMED; ANDERSON; ATKINSON *et al.*, 2020; CARRE; RICHARDSON; LARGER; MALLONE, 2021).

A identificação da(s) causa(s) elusiva(s) da autoimunidade inicial das ilhotas, é central para a compreensão de como o DM1 ocorre. O conceito de que autoimunidade na ilhota resulta da suscetibilidade genética combinada com um gatilho ambiental, inicialmente teorizado por Atkinson e Eisenbarth (ATKINSON; EISENBARTH, 2001), agora é mais amplamente aceito (ESPOSITO; TONI; TASCINI; SANTI *et al.*, 2019). O DM1 sintomático, ou estágio 3, geralmente ocorre após dois estágios clínicos que consistem em soroconversão e presença de dois ou mais autoanticorpos, seguidos pelo desenvolvimento da disglucemia (ESPOSITO; TONI; TASCINI; SANTI *et al.*, 2019). Embora valioso clinicamente, o modelo tem algumas limitações, algumas das quais estão apenas emergindo. Por exemplo, o estágio com positividade para um único autoanticorpo geralmente tem um risco significativamente menor de progressão (BUZZETTI, R.; DI PIETRO, S.; GIACCARI, A.; PETRONE, A. *et al.*, 2007; CARLSSON; SHEPHERD; ELLARD; WEEDON *et al.*, 2020) e, como tal, não é considerado o estágio mais inicial do DM1. No entanto, trabalhos recentes revelaram falhas na secreção de glucagon em ilhotas isoladas de doadores positivos apenas para autoanticorpo GAD (GADA) (DOLIBA; ROZO; ROMAN; QIN *et al.*, 2022).

É importante salientar que os autoanticorpos não são todos iguais em termos de risco. A ordem do aparecimento dos autoanticorpos influencia a progressão para o DM1 (VEHIK; BONIFACIO; LERNMARK; YU *et al.*, 2020): 22% dos indivíduos positivos unicamente para GADA progridem para múltiplos autoanticorpos, e cerca de 6% deles com múltiplos anticorpos progridem para o estágio 3 sintomático do DM1 (BINGLEY; BOULWARE; KRISCHER; TYPE 1 DIABETES TRIALNET STUDY, 2016). Por outro lado, existe heterogeneidade

entre os indivíduos que desenvolvem múltiplos autoanticorpos, com muitos não progredindo para o DM1 (JACOBSEN; BOCCHINO; EVANS-MOLINA; DIMEGLIO *et al.*, 2020). Independentemente disso, em termos de início da autoimunidade das ilhotas, o modelo postula um evento ambiental desencadeador do distúrbio.

Embora a insulina seja apenas um entre muitos autoantígenos relevantes para o DM1, várias linhas de evidência sugerem que a autorreatividade desse hormônio, tanto em camundongos quanto em humanos, desempenha um papel fundamental no início do DM1 (ANDERSON; LANDRY; ALKANANI; PYLE *et al.*, 2021; NAKAYAMA; ABIRU; MORIYAMA; BABAYA *et al.*, 2005). Evidências crescentes também sugerem que a diabetogênese envolve o reconhecimento de peptídeos híbridos por células T CD4⁺ gerados pela fusão da insulina com outros autoantígenos, como cromogranina A e polipeptídeo amilóide de ilhotas (DELONG; WILES; BAKER; BRADLEY *et al.*, 2016). Embora ainda não esteja claro por que e como essas células T são ativadas, um evento extra pancreático de *priming* (o efeito *priming* acontece quando, a exposição de um indivíduo a um determinado estímulo, influencia na sua resposta a um estímulo subsequente) desencadeado pela entrega sistêmica dos peptídeos de insulina gerados pelas células β é uma possibilidade provável (WAN; ZINSELMAYER; ZAKHAROV; VOMUND *et al.*, 2018). Nesse contexto, parece razoável propor que o *priming* das especificidades das células T iniciadoras da doença seja precedido por exposição anormal quantitativamente e/ou qualitativamente dessas células T aos epítomos cognatos de insulina.

Um número crescente de evidências apoia a visão de que a maioria, se não todas as pessoas abrigam células T autorreativas no repertório periférico, independentemente de sua tendência a doenças autoimunes (UMESHAPPA; MBONGUE; SINGHA; MOHAPATRA *et al.*, 2020). Embora isso seja irrelevante na maioria dos indivíduos, insultos às células β aliados à predisposição genética podem desencadear a ativação e recrutamento dessas células T para órgãos-alvo, como as ilhotas pancreáticas no DM1.

Estudos sugerem (BENDER; RODRIGUEZ-CALVO; AMIRIAN; COPPIETERS *et al.*, 2020; COPPIETERS; DOTTA; AMIRIAN; CAMPBELL *et al.*, 2012; CULINA; LALANNE; AFONSO; CEROSALETTI *et al.*, 2018; YEO; PUJOL-AUTONELL; BAPTISTA; EICHMANN *et al.*, 2020) que o início da autoimunidade

das ilhotas pode exigir insultos às células β capazes de provocar a ativação e o recrutamento das células T autorreativas para o pâncreas. Diferenças interindividuais geneticamente impressas na avidéz de células T autorreativas específicas, diferenças nas frequências absolutas de células T autorreativas e/ou diferenças nos limiares de ativação das células T, que são impactadas pelos processos de seleção do timo, podem ajudar a determinar a probabilidade e até que ponto um ou mais gatilhos ambientais poderiam levar à autoimunidade crônica e, eventualmente, destruição das células β (BENDER; RAJENDRAN; VON HERRATH, 2020).

Potenciais gatilhos ambientais para autoimunidade de ilhotas no DM1 permanece indefinidos (BENDER; RAJENDRAN; VON HERRATH, 2020), mas o mimetismo molecular entre antígenos celulares das células β e virais (CULINA; LALANNE; AFONSO; CEROSALETTI *et al.*, 2018; RODRIGUEZ-CALVO; JOHNSON; OVERBERGH; DUNNE, 2021) pode ser uma ligação plausível que explica a ativação seletiva de células T reativas às ilhotas em certos indivíduos. Estudos epidemiológicos de grandes coortes pediátricas forneceram informações sobre exposições ao longo da vida associadas à soroconversão, progressão a múltiplos autoanticorpos e finalmente DM1 sintomático (ZIEGLER; BONIFACIO; GROUP, 2012; ZIEGLER; REWERS; SIMELL; SIMELL *et al.*, 2013). Pesquisas estabeleceram que, em recém-nascidos geneticamente suscetíveis, o pico de incidência de soroconversão (desenvolvimento do primeiro autoanticorpo de ilhotas) ocorre entre 9 meses e 2 anos de idade (ZIEGLER; BONIFACIO; GROUP, 2012), e crianças que desenvolvem múltiplos autoanticorpos antes dos 3 anos de idade têm muito mais probabilidade de progredir para o DM1 nos 10 anos seguintes, em comparação com aqueles que não (ZIEGLER; REWERS; SIMELL; SIMELL *et al.*, 2013).

Atualizações recentes do estudo Determinantes Ambientais do Diabetes nos Jovens (*The Environmental Determinants of Diabetes in the Young* - TEDDY) suportam a visão de que o desenvolvimento da autoimunidade das ilhotas está associado à infecção crônica por enterovírus B (VEHIK; LYNCH; WONG; TIAN *et al.*, 2019). Nessa obra, demonstrou-se presença de vírus vivo no pâncreas de indivíduos com DM1. Os autores descobriram que, os tecidos ressecados da cauda do pâncreas de 6/6 indivíduos recentemente diagnosticados com DM1

(dentro de 1 mês após o diagnóstico), abrigavam enterovírus. Por outro lado, apenas dois em cada 11 de normoglicêmicos/indivíduos não diabéticos fizeram (KROGVOLD; GENONI; PUGGIONI; CAMPANI *et al.*, 2022). Notavelmente, outros vírus foram encontrados com muito menos frequência no pâncreas diabético (KROGVOLD; GENONI; PUGGIONI; CAMPANI *et al.*, 2022), argumentando contra uma predisposição geral à infecção viral em pessoas com DM1. Em adição a isso, correlações entre o número e tipo de autoanticorpo de ilhotas e várias formas de estresse psicossocial durante a gravidez foram demonstradas em evidências no estudo TEDDY (KAWAHARA; KARIYA; FUKUZAKI, 1988).

Embora um potencial evento desencadeador ambiental possa consistir plausivelmente de uma infecção enteroviral persistente, é importante observar que estudos anteriores não encontraram correlação entre enterovírus e DM1 (NEKOUA; ALIDJINOU; HOBBER, 2022), e é pouco provável que a heterogeneidade resultante na progressão da autoimunidade das ilhotas poderia ser explicada por um único tipo de gatilho ambiental em todos os casos.

Investigações futuras, envolvendo indivíduos em estágios iniciais pré-sintomáticos de DM1, serão necessárias para estabelecer se as infecções crônicas enterovirais poderiam promover seletivamente a ativação de populações de células T específicas para células β . Estudos adicionais também devem considerar eventos ainda mais precoces na vida, como eventos de sensibilização intrauterina, e seu impacto durante o período de desenvolvimento das células β no feto.

Mais recentemente, em 2022, Warncke e colaboradores (WARNCKE; WEISS; ACHENBACH; VON DEM BERGE *et al.*, 2022), sugerem em sua obra que alterações no metabolismo da glicose e/ou função das células β precedem o desenvolvimento de autoimunidade de ilhotas, e é tentador especular que alterações no início da vida na função das células β podem desempenhar um papel causal na autoimunidade das ilhotas (THOMPSON; PIPELLA; RUTTER; GAISANO *et al.*, 2023).

Ainda, o estudo supramencionado fornece uma nova perspectiva sobre o papel do desenvolvimento precoce pós-natal na formação do funcionamento e capacidade de resposta das ilhotas e suas interações com o sistema imunológico

em humanos. Um conjunto de evidências de estudos em roedores destaca a importância das interações da dieta com o epigenoma em células β neonatais (ABDERRAHMANI; JACOVETTI; REGAZZI, 2022), apoiando a importância do período neonatal na formação da base para a saúde a longo prazo das células β em adultos.

O início da autoimunidade das ilhotas provavelmente envolve mudanças no desenvolvimento no início da vida nas células β , bem como exposições ambientais. Todavia, não se sabe quais fatores impulsionam ainda mais progressão e desenvolvimento da autoimunidade das ilhotas (HUGHES; UNIVERSITY OF BIRMINGHAM. COLLEGE OF; DENTAL, 2016).

A autoimunidade de ilhota dinamicamente evolui e se expande durante a progressão do DM1 do estágio 1 para o estágio 3, como evidenciado pela presença de um número crescente de autoanticorpos e especificidades das células T autorreativas (HUGHES; UNIVERSITY OF BIRMINGHAM. COLLEGE OF; DENTAL, 2016). As células T reativas às ilhotas reconhecem um número crescente de antígenos e epítomos de células β à medida que a doença progride, consistente com disseminação tanto de antígenos e como de epítomos (CLAESSENS; WESSELIUS; VAN LUMMEL; LABAN *et al.*, 2020). Assim, a apresentação dinâmica de antígeno pelas células β pode ser um fator determinante na progressão da autoimunidade das ilhotas (LI; SUN; YUE; WANG *et al.*, 2021). Está bem estabelecido que as ilhotas humanas super expressam moléculas HLA de classe I durante os estágios iniciais do DM1 (RICHARDSON; RODRIGUEZ-CALVO; GERLING; MATHEWS *et al.*, 2016). No entanto, estudos recentes também relatam expressão de moléculas HLA de classe II nas células β no DM1 (QUESADA-MASACHS; ZILBERMAN; RAJENDRAN; CHU *et al.*, 2022; RUSSELL; REDICK; BLODGETT; RICHARDSON *et al.*, 2019).

A coloração tetrâmera confirma que as células β apresentam antígenos convencionais e modificados para células T CD8⁺ infiltrantes de ilhotas (AZOURY; TARAYRAH; AFONSO; PAIS *et al.*, 2020; GONZALEZ-DUQUE; AZOURY; COLLI; AFONSO *et al.*, 2018). Da mesma forma, estudos de células T CD4⁺ reativas às ilhotas humanas mostraram, que pelo menos alguns dos epítomos derivados das células β , que são alvo das células T CD4⁺

diabetogênicos, surgem do *splicing* alternativo de RNAm codificadores de antígenos ou da fusão pós-traducional de fragmentos de insulina e outros hormônios de grânulos secretórios, os chamados peptídeos híbridos de insulina (*Hybrid Insulin Peptides* - HIPs) (ARRIBAS-LAYTON; GUYER; DELONG; DANG *et al.*, 2020; GUYER; ARIBAS-LAYTON; MANGANARO; SPEAKE *et al.*, 2023).

Células T que reconhecem esses antígenos escapariam facilmente da tolerância central. Portanto, desempenham um papel mais significativo, embora não exclusivo, na diabetogênese em curso devido à sua maior afeição por peptídeos cognatos do complexo principal de histocompatibilidade (*peptide Major Histocompatibility Complex* - pMHC) na ausência da censura tímica.

Uma das principais mensagens destes estudos é que, os autoantígenos convencionais e tipicamente processados, representam apenas a ponta do *iceberg* em termos de complexidade de antígeno durante a progressão da autoimunidade das ilhotas.

Pré-pró-insulina e insulina (ou derivados) são os principais alvos antigênicos do repertório de células T autorreativas humanas que infiltram nas ilhotas no DM1 (ANDERSON; LANDRY; ALKANANI; PYLE *et al.*, 2021; RODRIGUEZ-CALVO; KROGVOLD; AMIRIAN; DAHL-JORGENSEN *et al.*, 2021). Modificação pós-traducionais, *splicing* alternativo, fusão híbrida, os produtos ribossômicos defeituosos e outros antígenos de células β não convencionais estão subjacentes à ativação de pelo menos algumas respostas de células T autorreativas.

Autoantígenos não convencionais de células β são coletivamente referidos como neo-antígenos (RODRIGUEZ-CALVO; JOHNSON; OVERBERGH; DUNNE, 2021), uma vez que compreendem sequências imunológicas novas ou estruturas que são expressas seletivamente (e expostas a células T autorreativas) no nicho das ilhotas. Como a apresentação do antígeno pelas células β é muito alterada por várias formas de estresse (PIGANELLI; MAMULA; JAMES, 2020), as vias de estresse que operam nas células β são uma das principais causas da formação de neo-antígenos.

Um número crescente de estudos apoia a visão de que as respostas ao estresse das células β , incluindo resposta a proteína mal enovelada (*Unfolded Protein Response* – UPR), resposta interferon tipo I e senescência, contribuem

para a progressão da autoimunidade das ilhotas e o DM1 (ROEP; THOMAIDOU; VAN TIENHOVEN; ZALDUMBIDE, 2021).

Cada uma dessas respostas ao estresse ocorre em células β humanas no DM1, como mostrado pelos estudos imunohistológicos em pâncreas de doadores (MARROQUI; DOS SANTOS; OP DE BEECK; COOMANS DE BRACHENE *et al.*, 2017; SAHIN; LEE; ENGIN, 2021; THOMPSON; SHAH; NTRANOS; VAN GOOL *et al.*, 2019). Além disso, intervenções baseadas em medicamentos que mitiguem cada uma dessas respostas de estresse parecem ser suficientes para interromper a progressão do diabetes em camundongos NOD (BRAWERMAN; THOMPSON, 2020). Ainda, resultados de ensaios clínicos direcionados à UPR em indivíduos com DM1 de início recente (GITELMAN; BUNDY; FERRANNINI; LIM *et al.*, 2021; OVALLE; GRIMES; XU; PATEL *et al.*, 2018), fornecem suporte para o potencial tradicional como alvo do estresse das células β em humanos.

Outra questão importante não respondida, diz respeito à relação entre a morte das células β e progressão da autoimunidade das ilhotas. O modo e a cinética da morte das células β durante os estágios pré-sintomáticos do DM1 variam claramente entre as pessoas. A forma como esse processo influencia a evolução da apresentação de antígenos, e a formação de neo-antígenos ainda precisa ser determinada (THOMPSON; PIPELLA; RUTTER; GAISANO *et al.*, 2023).

A noção da heterogeneidade funcional das células β é cada vez mais aceita como uma característica natural e biologicamente relevante da arquitetura e saúde das ilhotas (CHABOSSEAU; RUTTER; MILLERSHIP, 2021; MIRANDA; MACIAS-VELASCO; LAWSON, 2021). Salomon e Meda demonstraram pela primeira vez a existência de populações de células β de roedores com atividades secretoras diferentes (SALOMON; MEDA, 1986) e alguns anos depois, outros estudos (GUTIERREZ; GROMADA; SUSSEL, 2017; PIPELEERS, 1992; VAN SCHRAVENDIJK; KIEKENS; PIPELEERS, 1992) apresentaram subpopulações de células β que variavam em suas respostas metabólicas à glicose.

Contudo, não se sabe se algum tipo de célula β especializada, ou se ilhotas enriquecidas nestes tipos de células “reguladoras”, são preferencialmente visadas no DM1. Da mesma forma, não está elucidado se esses subtipos

especializados de células β têm alguma relação com as células β que sofrem respostas ao estresse, como UPR ou senescência, durante o DM1 (THOMPSON; PIPELLA; RUTTER; GAISANO *et al.*, 2023).

Ainda restam muitas questões em torno das origens da autoimunidade das ilhotas e como ela se desenvolve durante o DM1. Estamos apenas começando a apreciar os papéis das ilhotas e das próprias células β na autoimunidade. O desenvolvimento inicial das células β , bem como o metabolismo, reprogramação fenotípica, transcriptômica e reprogramação epigenética que as células α e β sofrem durante a diabetogênese permanecem pouco compreendidos em humanos.

Estudos dentro de intervalos críticos quando a soroconversão ocorre frequentemente em bebês com alto risco genético fornecerão informações mecanicistas fundamentais. Tem-se muito a aprender sobre como ocorre a apresentação de antígenos, as vias de estresse, e a heterogeneidade funcional das células β e como células α modulam resposta autoimune no DM1. O progresso sustentado nesta área revelará a mecanismos subjacentes à heterogeneidade na autoimunidade das ilhotas e orientar nossos esforços para mover as intervenções clínicas no DM1 em direção à medicina de precisão (THOMPSON; PIPELLA; RUTTER; GAISANO *et al.*, 2023).

2.2.2 Heterogeneidade e características clínicas do *Diabetes mellitus* tipo 1

O DM1 é uma doença altamente heterogênea, como demonstrado pelas amplas diferenças na epidemiologia, etiopatogenia, curso clínico e respostas à intervenção. Esta heterogeneidade impõe desafios para a predição, prevenção, diagnóstico e tratamento da doença. Mais amplamente, o esquema de classificação atual para *Diabetes mellitus* não captura sua complexidade ou orientar eficazmente o manejo clínico (REDONDO; HAGOPIAN; ORAM; STECK *et al.*, 2020; SILLER; TOSUR; RELAN; ASTUDILLO *et al.*, 2020). Uma das abordagens para atingir o objetivo de aplicar a medicina de precisão em *Diabetes mellitus*, foi definido como “o tratamento certo para o paciente certo no momento certo” (CEFALU; ANDERSEN; ARREAZA-RUBIN; PIN *et al.*, 2022), e envolve a identificação do endotipo, que pode ser passível de intervenções específicas

(BATTAGLIA; AHMED; ANDERSON; ATKINSON *et al.*, 2020; DELIGNE; YOU; MALLONE, 2022)

A incidência global do DM1 é estimada em 15 casos por 100.000 pessoas e a prevalência de 5,9 casos por 10.000 pessoas (IC 95% 0,07–0,12), mas existem grandes diferenças geográficas entre os países (MOBASSERI; SHIRMOHAMMADI; AMIRI; VAHED *et al.*, 2020). Isso pode refletir vários fatores ambientais e predisposição genética (REDONDO; GIGNOUX; DABELEA; HAGOPIAN *et al.*, 2022). Clinicamente, talvez a variação mais extrema na manifestação do DM1 seja observada no DM1 fulminante na Índia e no leste da Ásia, que muitas vezes apresenta-se em associação com HLA-DRB1*04:05-DQB1*04:01, sem autoanticorpos para ilhotas e com inflamação pancreática global (KAWABATA; IKEGAMI; AWATA; IMAGAWA *et al.*, 2009; WANG; ZHENG; TU; DAI *et al.*, 2016).

Por outro lado, a forma mais comum de *Diabetes mellitus* no Japão é *Diabetes mellitus* dependente de insulina lentamente progressivo (*Slowly Progressive Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* - SPIDDM), que é uma forma autoimune de DM que progride em um ritmo mais lento do que o DM1 típico (KOBAYASHI, 1994). A perda mais lenta da função das células β é também observada no *Diabetes mellitus* autoimune latente em adultos (*Latent Autoimmune Diabetes mellitus in Adults* - LADA) (MISHRA; HODGE; COUSMINER; LESLIE *et al.*, 2018), embora, diferentemente do SPIDDM, esta entidade seja, por definição, diagnosticada em indivíduos com mais de 30 anos de idade.

Pequenas diferenças entre grupos étnicos incluem aqueles vistos nos Estados Unidos, onde as crianças negras hispânicas ou não-hispânicas desenvolvem autoanticorpos para ilhotas em idade mais avançada, têm menor risco e taxas mais lentas de progressão (TOSUR; GEYER; RODRIGUEZ; LIBMAN *et al.*, 2018). Ainda, no início do DM1, são mais velhas, têm IMC mais alto e glicemia mais elevada do que as crianças brancas não-hispânicas (REDONDO; LIBMAN; CHENG; KOLLMAN *et al.*, 2018; TOSUR; REDONDO, 2018). Um estudo publicado em 2023 mostrou que certas populações africanas têm uma forma de DM1 em que, os autoanticorpos usualmente encontrados em populações europeias, não estão presentes (KATTE; MCDONALD; SOBNGWI; JONES, 2023). Esses dados salientam a heterogeneidade do *Diabetes mellitus*.

O DM1 apresenta diferenças profundas de acordo com a idade do portador (LEETE; MALLONE; RICHARDSON; SOSENKO *et al.*, 2018; PARVIAINEN; HARKONEN; ILONEN; BUT *et al.*, 2022). A idade no momento do diagnóstico reflete parcialmente a taxa de progressão através dos estágios pré-clínicos do DM1, que ocorre mais rapidamente com o início precoce da autoimunidade de ilhota. Além disso, o quadro clínico é mais grave, com maior frequência de cetoacidose diabética em crianças do que em adultos (CASU; KANAPKA; FOSTER; HIRSCH *et al.*, 2020). A predisposição genética também pode diferir entre o DM1 de início na infância e o DM1 de início na idade adulta (HOWSON; ROSINGER; SMYTH; BOEHM *et al.*, 2011; MISHRA; CHESI; COUSMINER; HAWA *et al.*, 2017).

Genótipos HLA associados ao DM1 são menos frequentes e a carga das regiões genéticas relacionadas ao DM1 (conforme medido pelos scores de risco genético de DM1, uma combinação ponderada dos polimorfismos associados ao DM1 em regiões HLA e não HLA) torna-se mais baixa conforme aumenta a idade ao diagnóstico (HOWSON; ROSINGER; SMYTH; BOEHM *et al.*, 2011; THOMAS; JONES; WEEDON; SHIELDS *et al.*, 2018). Ainda, positividade para um único autoanticorpo ocorre com mais frequência no início da idade adulta do que no DM1 pediátrico (REDONDO; SOSENKO; LIBMAN; MCVEAN *et al.*, 2020). Embora agora se reconheça que mais casos são diagnosticados durante idade adulta do que na infância, o DM1 de início na idade adulta ainda é pouco estudado e, no ambiente clínico, é frequentemente classificado erroneamente como *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) (LESLIE; EVANS-MOLINA; FREUND-BROWN; BUZZETTI *et al.*, 2021; THOMAS; JONES; WEEDON; SHIELDS *et al.*, 2018).

2.2.3 Autoimunidade de ilhotas do *Diabetes mellitus* tipo 1

A heterogeneidade na autoimunidade das ilhotas é evidenciada pelas características de células imunes infiltrantes dentro e ao redor das ilhotas pancreáticas e autoanticorpos de ilhotas circulantes (por exemplo, para GAD65, IA-2 – também conhecido como ICA512 – ZnT8 e insulina).

Uma pequena porcentagem de indivíduos, não apresenta autoanticorpos séricos mensuráveis para ilhotas (ROSS; WARD; GOMBER; OWAIS *et al.*,

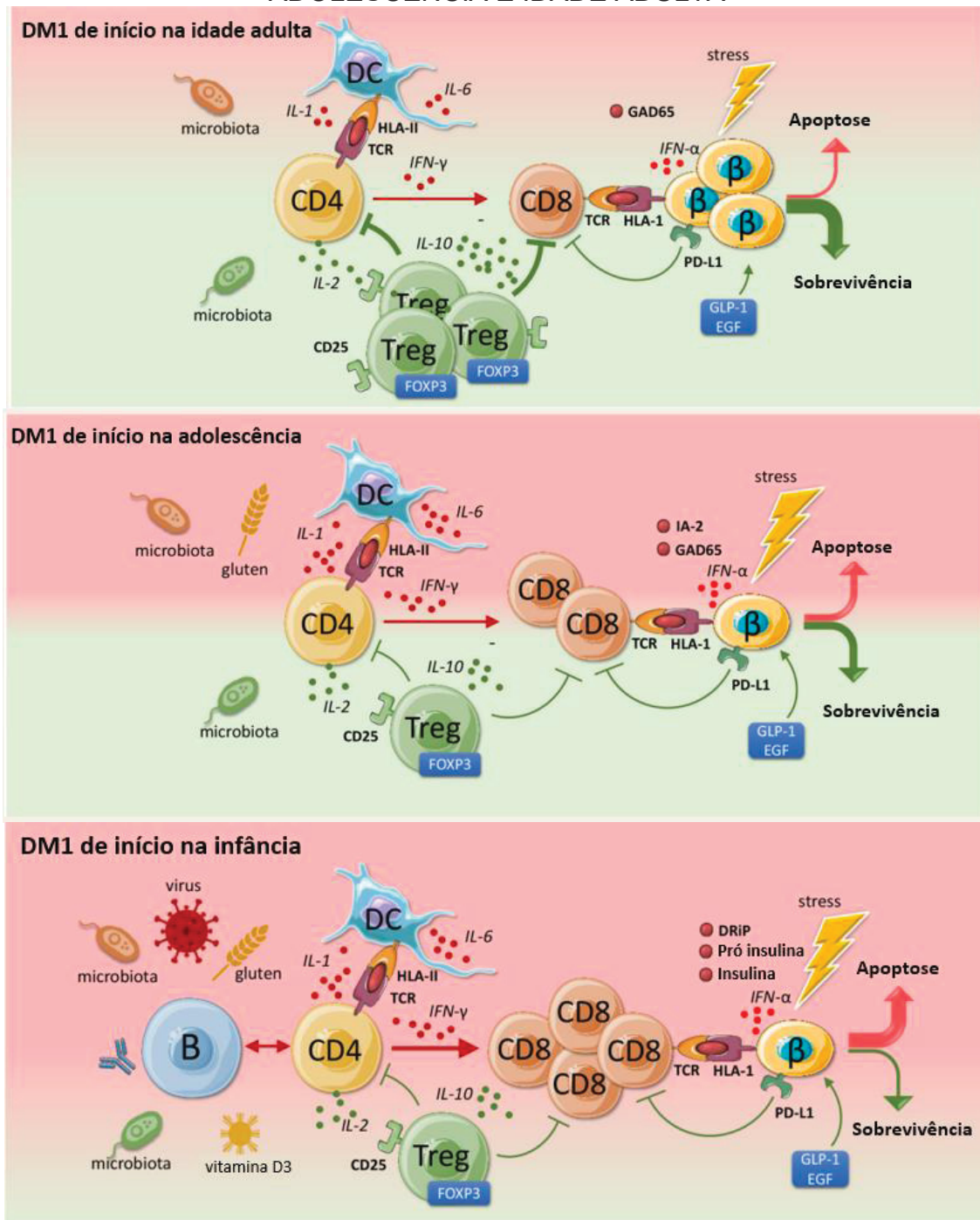
2022). Isso se deve, possivelmente, devido a disfunção das ilhotas resultante de autoimunidade celular, sem circulação marcadores humorais ou disfunção de ilhotas resultantes de causas não autoimunes, como mutações em genes não identificados (CARLSSON; SHEPHERD; ELLARD; WEEDON *et al.*, 2020; ORAM; PATEL; HILL; SHIELDS *et al.*, 2016).

O *Diabetes mellitus* propenso à cetose, que é mais comum em indivíduos de origem africana ou ascendência asiática do que em pessoas de ascendência europeia, apresenta dependência intermitente de insulina e pode carecer de autoanticorpos e associações típicas HLA (BALASUBRAMANYAM; NALINI; HAMPE; MALDONADO, 2008).

A soroconversão relacionada à autoimunidade geralmente ocorre durante os primeiros 6 anos de vida, mas tanto o curso do tempo quanto a sequência de o aparecimento no soro de tipos específicos de autoanticorpos variam de acordo com cada organismo (GHALWASH; DUNNE; LUNDGREN; REWERS *et al.*, 2022; ILONEN; LAINE; KIVINIEMI; HARKONEN *et al.*, 2022; KRISCHER; LIU; LERNMARK; HAGOPIAN *et al.*, 2021). Essa questão pode implicar um elemento de estocasticidade na geração de autoanticorpos, embora etiologias mais específicas associadas com endotipos relacionados com a idade tenham sido propostas (LAINE; VALTA; TOPPARI; KNIP *et al.*, 2022; PARVIAINEN; HARKONEN; ILONEN; BUT *et al.*, 2022) (Figura 2).

O fato de a geração de anticorpos ocorrer frequentemente no início da vida, implica que os eventos desencadeadores de autoimunidade das ilhotas podem estar ativos em idades mais jovens (REDONDO; MORGAN, 2023), possivelmente durante os primeiros 2 anos de vida, mesmo que estes não conduzam imediatamente ao início da doença. Assim, outros parâmetros devem ditar a taxa na qual ocorre disfunção e morte das células β (tais como o endotipo manifestado). Pesquisas em torno daqueles que desenvolvem DM1 mais tarde na vida, e também têm um desenvolvimento mais precoce de autoanticorpos de ilhotas (consistente com início precoce do processo autoimune), são encorajadas (REDONDO; MORGAN, 2023).

FIGURA 2 – FISIOPATOLOGIA DO DM1 DE INÍCIO NA INFÂNCIA, ADOLESCÊNCIA E IDADE ADULTA



A patofisiologia e os endotipos do *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) englobam complexas interações entre as células β e o sistema imunológico, que podem desencadear e modular a autoimunidade e a subsequente destruição das células beta. A contribuição relativa dos distintos tipos celulares na progressão da doença varia conforme a idade de início. Dessa forma, a representação simbólica do verde sugere um papel protetor, enquanto o vermelho indica um envolvimento progressivo no desenvolvimento do DM1. O desequilíbrio imunológico é particularmente acentuado em pacientes que manifestam DM1 em idades mais precoces, quando a patologia assume um caráter mais agudo e severo. Conforme a idade avança, observa-se uma atenuação gradual tanto da autoimunidade quanto da taxa de perda das células β . As células T CD4 são ativadas por autoantígenos específicos das ilhotas, os quais variam entre os diferentes subtipos endofenotípicos da doença. A interleucina-2 (IL-2) exerce um efeito diferencial ao estimular tanto as células T efectoras CD8⁺ quanto as células T reguladoras, com esta última resposta sendo

observada em baixas concentrações de IL-2. As células T reguladoras desempenham um papel essencial na proteção contra a destruição das células beta. Por outro lado, a interleucina-6 (IL-6) estimula a inflamação e inibe a regulação imunológica. As células T CD8 ativadas são ativadas pelo interferon-alfa (IFN- α) e pela interleucina-1 (IL-1), desempenhando um papel crucial na agressão às células beta. Em situações de estresse, as células β aumentam a expressão de complexo de histocompatibilidade classe 1 (HLA 1) e secretam IFN- α , o que desencadeia e atrai as células CD8. No entanto, esse processo destrutivo pode ser mitigado pela ação das proteínas GLP-1 e EGF, as quais exercem um efeito redutor sobre o estresse celular. Por sua vez, a sinalização de interferon-gama (IFN- γ) estimula a expressão de PD-L1 e promove a sobrevivência das células β .

Fonte: Adaptado de den Hollander e Roep (2022).

No estudo TEDDY, o agrupamento de 370 crianças de acordo com a seu perfil longitudinal de autorreatividade à insulina, GAD e IA-2, revelaram estratificação da probabilidade de progressão para DM1 clínico (ENDESFELDER; ZU CASTELL; BONIFACIO; REWERS *et al.*, 2019). Uma análise mais granular revelou que, a idade mais precoce na soroconversão para cada dos autoanticorpos, foi a característica discriminatória mais importante na determinação da provável progressão para a doença, independentemente dos perfis absolutos de especificidade dos autoanticorpos. Em um estudo alemão, a idade ao diagnóstico foi um fator crítico para fornecer uma base para estratificação do nível residual de peptídeo C (ACHENBACH; HIPPICH; ZAPARDIEL-GONZALO; KARGES *et al.*, 2022). No geral, a idade jovem e a soroconversão precoce foram associadas a respostas inflamatórias mais intensas.

2.2.4 Fatores metabólicos do *Diabetes mellitus* tipo 1

Algumas pessoas com DM1 também apresentam características tipicamente associadas ao DM2, como resistência à insulina, obesidade ou associações genéticas específicas (FERRARA; GEYER; EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2017; REDONDO; GEYER; STECK; SOSENKO *et al.*, 2018; REDONDO; SOSENKO; LIBMAN; MCVEAN *et al.*, 2020). Esta observação não é surpreendente, haja vista que o DM2 é comum na população em geral, e por isso, espera-se que algumas pessoas com DM1 desenvolvam DM2 de forma independente.

Foi demonstrado que IMC elevado acelera o início clínico do DM1 (CENSIN; NOWAK; COOPER; BERGSTEN *et al.*, 2017; FERRARA; GEYER;

EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2017), e este efeito foi mais pronunciado em hispânico, que apresentaram aumento de 400% no risco, do que em crianças brancas não-hispânicas, em que foi demonstrado um aumento de 34% no risco (TOSUR; GEYER; RODRIGUEZ; LIBMAN *et al.*, 2018). O excesso de peso ou obesidade, idade avançada, aliado a positividade para um único autoanticorpo, foram associados a melhor preservação das concentrações de peptídeo C em relação às concentrações plasmáticas de glicose (NATHAN; BOULWARE; GEYER; ATKINSON *et al.*, 2017; REDONDO; NATHAN; JACOBSEN; SIMS *et al.*, 2021).

A obesidade pode influenciar a progressão da autoimunidade das ilhotas através da inflamação, estresse do retículo endoplasmático e apoptose de células β (WU; BALLANTYNE, 2020). No DM2, a elevação da proporção de células T auxiliares em relação as células T reguladoras (TAO; LIU; GONG, 2019), citocinas pró-inflamatórias (como CCL2 e TNF) (BUTCHER; HALLINGER; GARCIA; MACHIDA *et al.*, 2014) células T reativas às ilhotas e autoanticorpos de ilhotas foram descritos (BROOKS-WORRELL; REICHOW; GOEL; ISMAIL *et al.*, 2011)

Assim, entre adolescentes e crianças >9 anos de idade, sem HLA de alto risco, DR4-DQ8 ou haplótipos DR3-DQ2, a autoimunidade das ilhotas tem maior probabilidade de progredir em aqueles com sobrepeso ou obesidade do que aqueles sem (FERRARA-COOK; GEYER; EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2020).

2.2.5 Carga genética do *Diabetes mellitus* tipo 1

Um *score* de risco genético de DM1 mais alto (indicando uma carga genética mais alta para da doença), correlaciona-se com maior risco de DM1 e progressão mais rápida através dos estágios pré-clínicos (REDONDO; GEYER; STECK; SHARP; WENTWORTH; WEEDON; ANTINOZZI; SOSENKO; ATKINSON; PUGLIESE; ORAM *et al.*, 2018). A capacidade da genética de prever o risco de progressão para DM1 clínico enfraquece progressivamente a partir do início da autoimunidade das ilhotas com um único autoanticorpo até a transição para positividade múltipla e depois para o diagnóstico de DM1 (REDONDO; GEYER; STECK; SHARP; WENTWORTH; WEEDON; ANTINOZZI;

SOSENKO; ATKINSON; PUGLIESE; ORAM *et al.*, 2018). Ainda, as regiões genéticas específicas envolvidas em cada etapa, são altamente variáveis (KRISCHER; LIU; LERNMARK; HAGOPIAN *et al.*, 2022).

Por outro lado, genótipos HLA associados ao DM1 foram menos frequentes em indivíduos com positividade para múltiplos autoanticorpos, que não progrediram para DM1 dentro de 10 anos após soroconversão, em comparação com crianças que apresentaram sintomas clínicos DM1 com idade inferior aos 5 anos de idade (LONG; WILSON; BECKER; LIBMAN *et al.*, 2018). Além disso, as diferenças geográficas também podem ser explicadas, pelo menos em parte, por diferenças nos alelos HLA e haplótipos entre as populações (Quadro 2).

Embora a maioria dos estudos genéticos de DM1 tenham sido conduzidos em indivíduos de ascendência europeia, estudos emergentes em coortes de outras etnias estão revelando variação entre grupos étnicos no risco genético conferido pelos alelos HLA (ONENGUT-GUMUSCU; CHEN; ROBERTSON; BONNIE *et al.*, 2019) (Figura 2).

QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS DO DM1E1 E DM1E2

Região	Haplótipo	Prevalência (%)
África	DR3-DQ2.5	7,2
	DR4-DQ8.1	4,7
	DR9-DQ9.3	0,0
	DR15-DQ6.1 ou DR15-DQ6.2	12,8
	DR13-DQ6.3 ou DR13-DQ6.9	5,9
Leste da Ásia	DR3-DQ2.5	6,8
	DR4-DQ8.1	5,7
	DR9-DQ9.3	15,5
	DR15-DQ6.1 ou DR15-DQ6.2	10,1
	DR13-DQ6.3 ou DR13-DQ6.9	2,7
Europa	DR3-DQ2.5	12,2
	DR4-DQ8.1	9,8
	DR9-DQ9.3	1,0
	DR15-DQ6.1 ou DR15-DQ6.2	14,1
	DR13-DQ6.3 ou DR13-DQ6.9	6,8
Oriente médio	DR3-DQ2.5	8,9
	DR4-DQ8.1	8,3
	DR9-DQ9.3	0,4
	DR15-DQ6.1 ou DR15-DQ6.2	9,1
	DR13-DQ6.3 ou DR13-DQ6.9	5,3

A prevalência dos cinco haplótipos HLA-DR-DQ que estão associados à suscetibilidade ou a resistência ao *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) varia entre regiões geográficas (REDONDO; GIGNOUX; DABELEA; HAGOPIAN *et al.*, 2022).
Fonte: Redondo e Morgan (2023).

Apoiando ainda mais o conceito de que os mecanismos patogênicos normalmente associado ao DM1 ou DM2 podem combinar e interagir em um mesmo indivíduo, foi demonstrado que variantes genéticas do *TCF7L2* (*Transcription factor 7-like 2*; Fator de transcrição 7 tipo 2) que conferem risco ao DM2, também modificam o curso natural (REDONDO; STECK; SOSENKO; ANDERSON *et al.*, 2018) e a apresentação do DM1 (REDONDO; GEYER; STECK; SOSENKO *et al.*, 2018; REDONDO; MUNIZ; RODRIGUEZ; IYER *et al.*, 2014). Indivíduos com DM1 de início recente e positividade para um único autoanticorpo, isto é, apenas autoimunidade de grau leve, têm maior probabilidade de ter resistência à insulina e, entre adolescentes e adultos, portadores do alelo no polimorfismo no gene *TCF7L2* associado ao DM2 do que aqueles com múltipla positividade para autoanticorpos (REDONDO; MUNIZ; RODRIGUEZ; IYER *et al.*, 2014).

Consistente com estas conclusões, entre os doadores da Rede para Doadores de Órgãos Pancreáticos com Diabetes (*network for Pancreatic Organ Donors with diabetes* - nPOD) com DM1, aqueles com o alelo de risco no gene *TCF7L2*, em comparação com doadores sem o alelo, tiveram uma frequência maior de ilhotas residuais contendo insulina após o ajuste para idade de início e duração do DM, IMC, *z-score*, sexo e raça afro-americana (REDONDO; RICHARDSON; PERRY; MINARD *et al.*, 2023).

Além disso, os participantes do *T1DM Exchange* com DM1 estabelecido portadores do polimorfismo no gene *TCF7L2* associado ao DM2, em comparação com aqueles que não o possuíam o polimorfismo, apresentaram menor probabilidade de possuírem os genótipos HLA associados ao DM1 (REDONDO; GRANT; DAVIS; GREENBAUM *et al.*, 2017).

2.2.6 Endotipos do *Diabetes mellitus* tipo 1

Os endotipos de doenças, são definidos como tendo processos patológicos intrinsecamente únicos, que necessitam de abordagens de

tratamento específicas e têm implicações prognósticas (REDONDO; STECK; SOSENKO; ANDERSON *et al.*, 2018). Os endotipos diferem dos fenótipos, que representam características ou traços observáveis de uma doença, e que nem sempre implicam em um mecanismo distinto. Por exemplo, diferentes graus de gravidade ou taxas de progressão de uma doença são características fenotípicas e isso não implica necessariamente uma patogênese idiossincrática. De forma similar, idade ou sexo do paciente pode modular a expressão de um fenótipo sem que o resultado seja qualificado como um endotipo (REDONDO; MORGAN, 2023).

Em contraponto, um fenótipo distinto é muitas vezes o primeiro indicador de um mecanismo patogênico diferente. E quando um mecanismo molecular ou celular distinto pode ser atribuído, e/ou eficácia de comprovado tratamento específico, o fenótipo é mais bem identificado como um endotipo ou uma doença separada. Um claro exemplo é o diabetes de início na maturidade dos jovens (*Maturity Onset of Diabetes in the Young* - MODY), que foi reconhecido como uma entidade separada do DM1 ou DM2 após se observar o fenótipo distinto de jovens com *Diabetes mellitus* brando, e história familiar de *Diabetes mellitus* consistente com herança mendeliana (REDONDO; GRANT; DAVIS; GREENBAUM *et al.*, 2017). Este fenótipo mostrou responder à tratamento não insulínico (REDONDO; GRANT; DAVIS; GREENBAUM *et al.*, 2017; REDONDO; MUNIZ; RODRIGUEZ; IYER *et al.*, 2014; REDONDO; RICHARDSON; PERRY; MINARD *et al.*, 2023) e décadas depois foi atribuído a mutação genética específica (REDONDO; MUNIZ; RODRIGUEZ; IYER *et al.*, 2014).

Em resumo, a heterogeneidade fenotípica pode apoiar a heterogeneidade patogênica, mas provando a existência de endotipos separados requer a identificação de mecanismos patogênicos distintos que são passíveis de tratamento específico.

2.2.6.1 Endotipos 1 e 2 do *Diabetes mellitus* tipo 1

O primeiro nível de heterogeneidade do DM1, reside na constatação de que as ilhotas dentro de um determinado pâncreas, estão sujeitas a ataques imuno mediados em taxas variáveis ao longo do tempo (ATKINSON; CAMPBELL-THOMPSON; KUSMARTSEVA; KAESTNER, 2020; POWERS,

2021; RICHARDSON; PUGLIESE, 2021). A histologia desse tecido revela focos distintos de destruição das células β , com ilhotas em algumas regiões aparentemente intocadas enquanto outras, muitas vezes próximos, são desprovidas de imuno positividade para insulina. Mais uma vez, a idade é importante, uma vez que as crianças com menos de 10 anos de idade no início da doença apresentam a menor heterogeneidade, com a maioria de suas células β destruídas, e a maioria das ilhotas contendo insulina residual sob ataque inflamatório ativo (LEETE; WILLCOX; KROGVOLD; DAHL-JORGENSEN *et al.*, 2016). Por outro lado, aqueles que desenvolvem DM1 na adolescência apresentam um perfil de doença muito menos agressivo com muitas ilhotas contendo insulina (frequentemente >50%), a maioria dos quais não possuem infiltrados inflamatórios. Tem sido difícil atribuir essas diferenças para qualquer arquitetura genética subjacente, mas surgiram indícios de que certos polimorfismos predisponentes em genes, incluindo *IKZF3* e *IL10*, estão associados a crianças com diagnóstico em idade inferior a 7 anos de idade (INSHAW; CUTLER; CROUCH; WICKER *et al.*, 2020).

Alinhados com uma variabilidade nas proporções de ilhotas inflamadas, estão variações substanciais na magnitude e composição das células imunes infiltrantes. Em crianças mais novas (<7 anos de idade), os infiltrados inflamatórios associados às ilhotas compreendem um grande número de ambas as células T CD8⁺ e células B CD20⁺, enquanto em crianças mais velhas (≥ 13 anos de idade) o número absoluto de células T CD8⁺ infiltrantes é normalmente muito mais baixo e muito poucas células B CD20⁺ são detectadas (INSHAW; CUTLER; CROUCH; WICKER *et al.*, 2020; LEETE; ORAM; MCDONALD; SHIELDS *et al.*, 2020).

É importante ressaltar que esses dois perfis imunológicos, segregam com a idade no momento do diagnóstico, e eles não representam um *continuum*. Inevitavelmente, porém, embora a dependência da idade dos perfis imunológicos é estrita para aqueles com menos de 7 anos ou >12 anos de idade, há sobreposição no grupo de idade intermediária (8–12 anos). Como resultado, ambos os perfis podem ser encontrados entre crianças em esta faixa etária intermediária. Esta descoberta apoia fortemente a proposição de que os dois perfis de células imunológicas refletem diferenças na etiologia da doença. Assim, dois endotipos imunológicos foram propostos: endotipo 1 de DM1 (DM1E1) e

DM1 endotipo 2 (DM1E2) (LEETE; ORAM; MCDONALD; SHIELDS *et al.*, 2020) (Quadro 3). Apesar desta evidência, o conceito de endotipos no DM1 permanece controverso (REDONDO; MORGAN, 2023).

QUADRO 3 – CARACTERÍSTICAS DO DM1E1 E DM1E2

	DM1E1	DM1E2
Associação genética primária	HLA DR4-DQ8	HLA DR3-DQ2
Autoanticorpos de ilhotas	IAA 1º (<2 anos), depois IA-2 com ou sem GAD65 Alta % de IAA+ e títulos IAA no início do DM1	GAD 1º, com ou sem outros autoanticorpos
Outros achados imunológicos	Alta % de infiltração de células T CD8+ e células B CD20+ nas ilhotas	Baixa % de infiltração de células T CD8+; Muito baixa % de células B CD20+ nas ilhotas comparadas ao DM1E1;
Anormalidades nas células β	↑ Pró-insulina/peptídeo C; ↓ % células com insulina; Maturação anormal;	↑ % células com insulina comparadas ao DM1E1
Resposta a imunomoduladores	Sim	Menos responsivo que DM1E1
Outras doenças associadas	Doença celíaca	Autoimunidade da tireoide

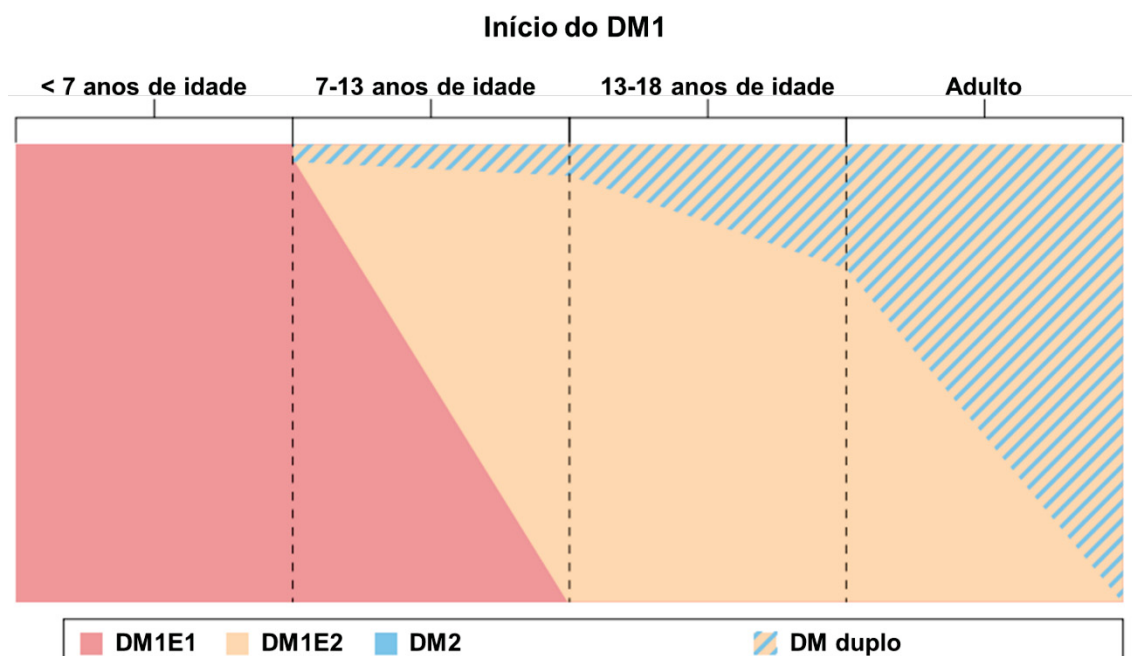
IAA, autoanticorpos contra a insulina (*Insulin AutoAntibodies*); DM1E1, DM1 endotipo 1; DM1E2, DM1 endotipo 2; DM, *Diabetes mellitus* tipo 1
Fonte: Redondo e Morgan (2023).

Em uma análise histológica adicional, de tecido pancreático de pessoas com DM1, revelou-se uma variação marcante na capacidade das células β no processamento correto da insulina entre os dois tipos de endo propostos (REDONDO; MORGAN, 2023). Em crianças com DM1 definido como DM1E1, a maioria das ilhotas exibem evidências de processamento aberrante de pró-insulina, levando a um acentuado aumento na proporção circulante de pró-insulina em relação ao peptídeo C. Por contraste, em crianças com DM1 definido como DM1E2, a maioria das ilhotas retém aparentemente processamento normal de pró-insulina, e a proporção circulante de pró-insulina ao peptídeo C é correspondentemente menor (LEETE; ORAM; MCDONALD; SHIELDS *et al.*, 2020).

A medida desta relação oferece um meio potencial para a diferenciação entre DM1E1 e DM1E2, entre crianças que desenvolvem DM1 entre 8 e 12 anos

de idade, onde qualquer um dos endotipos pancreáticos pode ser encontrado (Figura 3).

FIGURA 3 – MODELO CONCEITUAL PARA DISTRIBUIÇÃO DOS ENDOTIPOS DO *Diabetes mellitus* TIPO 1 POR IDADE DE INÍCIO



O *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) pode se desenvolver como endotipo 1 de DM1 (DM1E1, representado em vermelho) ou endotipo 2 (DM1E2, representado em amarelo). T1DE1 é o endotipo predominante em crianças diagnosticadas com DM1 com menos de 7 anos de idade e sua prevalência diminui acentuadamente em indivíduos diagnosticados em idades mais avançadas. DM1E2 é o tipo predominante após os 7 anos de idade e aumenta com a idade, tornando-se o endotipo predominante de DM1 depois dos 13 anos de idade. Na faixa etária intermediária (7 a 13 anos), algumas crianças têm DM1E2 e outras crianças têm DM1E2. O *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), que é altamente prevalente em adultos, mas também aparece em indivíduos mais jovens, podendo coexistir com DM1E2 e modificar suas características, resultando em *Diabetes mellitus* duplo; esta interação é representada aqui como listras azuis e amarelas.

Fonte: Redondo e Morgan (2023)

Concentrações aumentadas de pró-insulina não se limitam apenas ao DM1, uma vez que essa elevação também pode ocorrer no DM2 (e em idosos com DM1). Entretanto, estudos indicam (LEETE; ORAM; MCDONALD; SHIELDS *et al.*, 2020; RODRIGUEZ-CALVO; CHEN; VERCHERE; HAATAJA *et al.*, 2021; SIMS; BAHNSON; NYALWIDHE; HAATAJA *et al.*, 2019) que a elevação da pró-insulina, em proporção ao peptídeo C, está particularmente aumentada em crianças pequenas com DM1 (classificado como DM1E1). Esta observação é consistente com evidências histológicas, implicando que o processo de processamento da pró-insulina é afetado de forma muito maior

nestes pacientes (LEETE; WILLCOX; KROGVOLD; DAHL-JORGENSEN *et al.*, 2016).

Ao analisar o processamento da pró-insulina em crianças com DM1, em última análise, definido como DM1E2, uma descoberta particularmente importante é que estas as crianças têm duas populações diferentes de ilhotas pancreáticas (LEETE; ORAM; MCDONALD; SHIELDS *et al.*, 2020). A primeira dessas populações, tem segregação aparentemente normal de insulina e pró-insulina dentro das células β , enquanto a segunda população apresenta processamento de insulina equivalente ao observado no DM1E1.

De forma ainda mais intrigante, em amostras de pâncreas de pacientes com DM1 de longa duração, notou-se a falta de uma população de ilhotas, sugerindo que estas podem ter sido alvejadas seletivamente durante o processo de ataque autoimune (REDONDO; MORGAN, 2023). As ilhotas residuais contendo insulina nesses pacientes (que representava uma proporção muito maior do número total de ilhotas do que em DM1E1, conforme avaliado por co-imunocoloração com um anti-glucagon anticorpo) não apresentou processamento aberrante de pró-insulina (LEETE; ORAM; MCDONALD; SHIELDS *et al.*, 2020).

Assim, as diferenças nos perfis das células imunológicas, no processamento da pró-insulina, na proporção de ilhotas residuais contendo insulina e a extensão da perda de células β diferem entre DM1E1 e DM1E2 (Quadro 3).

É importante mencionar que, muitos desses estudos iniciais, foram realizados através da amostragem de apenas uma população das ilhotas presentes em cada seção do pâncreas. Essa limitação foi uma consequência inevitável da natureza demorada da avaliação manual (REDONDO; MORGAN, 2023). Para se assegurar que estas conclusões sejam totalmente representativas, de uma população mais ampla de ilhotas e com o advento da digitalização de seções inteiras e da análise baseada em *software*, os dados foram agora expandidos e resultados idênticos obtidos de muitos milhares de ilhotas, em vez do que algumas dezenas a centenas, como havia sido estudado anteriormente (REDONDO; MORGAN, 2023).

A evidência histológica que gerou o conceito de endotipo no DM1, foi baseada em um número relativamente pequeno de casos. No entanto, há uma

boa razão para este fato, uma vez que existem em todo o mundo poucas amostras pancreáticas colhidas de pessoas com DM1 de início recente (REDONDO; MORGAN, 2023).

Muitas destas amostras utilizadas em estudos, provêm de pessoas que tiveram o diagnóstico do DM1 em idade avançada. Nesse contexto, crianças pequenas, com início recente da doença, ficaram de fora dessas análises (REDONDO; MORGAN, 2023). Esta falta de disponibilidade amostras pancreáticas, pode ser a causa de ceticismo em relação ao conceito de endotipo, já que poucos histopatologistas viram em primeira mão as diferenças no perfil imunológico entre DM1E1 e DM1E2 (REDONDO; MORGAN, 2023).

Redondo e Morgan (2023) enfatizam a separação absoluta dos endotipos propostos, DM1E1 e DM1E2, entre crianças <8 anos de idade *versus* aquelas >13 anos de idade (REDONDO; MORGAN, 2023). Os autores mencionam que, mesmo que esta diferenciação se revele uma simplificação excessiva, isso não exclui a firme conclusão de que os perfis imunológicos pancreáticos definem diferentes etiologias da doença (REDONDO; MORGAN, 2023).

2.2.6.2 Formas não clássicas de *Diabetes mellitus* tipo 1 com declínio lento da função das células β

Embora o DM1E2, o endotipo observado no DM1 de início na adolescência e no início da idade adulta, tenha uma progressão mais lenta da perda da função das células β (ambos antes e depois do diagnóstico), do que em crianças muito pequenas com DM1E1, a gravidade e a taxa de destruição autoimune das ilhotas variam entre indivíduos com DM1E2 (REDONDO; MORGAN, 2023).

Muitos desses indivíduos desenvolvem DM1 com características clássicas (ou seja, perda rápida da função das células β), possivelmente correspondendo ao grupo de portadores de “diabetes autoimune grave” (*Severe Autoimmune Diabetes* - SAID), proposto por Ahlqvist e colaboradores (AHLQVIST; STORM; KARAJAMAKI; MARTINELL *et al.*, 2018).

No outro extremo do espectro estão aqueles com SPIDDM, que foi mais amplamente descrito na população japonesa (NISHIMURA; MATSUMURA;

KIKUNO; NAGASAWA *et al.*, 2019), e LADA (MISHRA; HODGE; COUSMINER; LESLIE *et al.*, 2018), que é, por definição, diagnosticado em indivíduos acima de 30 anos de idade.

Redondo e Morgan (2023) propõem que SPIDDM e LADA sejam casos extremos de DM1E2, com autoimunidade de ilhotas mais fraca do que a observada no típico DM1E2 (REDONDO; MORGAN, 2023).

Este conceito de autoimunidade de ilhotas mais fraca é apoiado pela observação que indivíduos com LADA ou SPIDDM (*Slowly progressive type 1 insulin-dependent Diabetes mellitus; Diabetes mellitus* dependente de insulina tipo 1 lentamente progressivo) (NISHIMURA; MATSUMURA; KIKUNO; NAGASAWA *et al.*, 2019) muitas vezes desenvolvem positividade para apenas um autoantígeno de ilhotas, mais comumente GADA. Comparado com o ataque agressivo às células β que ocorre no DM1 clássico, a autoimunidade relativamente leve de ilhotas característica de LADA e SPIDDM leva mais tempo para destruir as células β a ponto de causar o DM clínico (REDONDO; MORGAN, 2023).

Pacientes com LADA ou SPIDDM inicialmente têm função de células β suficientes para manter a independência da insulina mesmo após o diagnóstico, mas esta fase é apenas transitória à medida que a doença progride e mais células β são perdidas (REDONDO; MORGAN, 2023).

No DM1 clássico, a progressão para o DM é mais rápida do que em SPIDDM e LADA, e os limiares para o DM clínico e dependência de insulina são cruzados quase simultaneamente. SPIDDM e LADA têm fortes pontos em comum com o DM1 clássico, incluindo regiões genéticas HLA e não HLA semelhantes, positividade para autoanticorpos de ilhotas, aumento da história pessoal e familiar de outras doenças autoimunes e declínio da função das células β (REDONDO; MORGAN, 2023).

No entanto, o declínio caracteristicamente lento na função das células β no SPIDDM e LADA leva a idade avançada de início do DM ou mesmo ausência de progressão ao DM clínico, exceto na presença de fatores diabetogênicos adicionais.

Dentre eles, a resistência à insulina e defeitos de secreção de insulina não autoimune (REDONDO; MORGAN, 2023). Essas causas diabetogênicas adicionais são na maioria das vezes fatores relacionados ao DM2, que são

coletivamente muito prevalentes na população em geral (REDONDO; MORGAN, 2023).

Por outro lado, embora a arquitetura genética do LADA é o mais próximo do DM1, nota-se alguma carga de DM2 (COUSMINER; AHLQVIST; MISHRA; ANDERSEN *et al.*, 2018), como polimorfismos *TCF7L2* ou o *locus HNF1A* associado ao DM2.

O fenótipo que resulta da combinação de DM1 e os mecanismos patogênicos do DM2 receberam nomes diferentes na literatura, incluindo *Diabetes mellitus* duplo (DMD) e *Diabetes mellitus* tipo 1,5 (LIBMAN; BECKER, 2003) (Quadro 4).

Uma função residual persistente das células β , embora não sustentada, está subjacente à resposta do LADA às terapias não insulina, como certas tiazolidinedionas (BROOKS-WORRELL; PALMER, 2013), inibidores das dipeptidilpeptidase IV (BUZZETTI; POZZILLI; FREDERICH; IQBAL *et al.*, 2016), terapias modificadoras da doença, como com alúmen formulado com GAD65 recombinante (GAD-alum) (AGARDH; LYNCH; PALMER; LINK *et al.*, 2009) e outros agentes (BUZZETTI; TUOMI; MAURICIO; PIETROPAOLO *et al.*, 2020), mas suas respectivas eficácias requerem verificação mais detalhada (Quadro 4).

QUADRO 4 – FORMAS NÃO CLÁSSICAS DE *Diabetes mellitus* COM CARACTERÍSTICAS DE DM1 E DM2

Diabetes autoimune latente do adulto (LADA)	<i>Diabetes mellitus</i> duplo (DMD)
DM1 resultante de um ataque lentamente progressivo às células β que, para atingir o limiar para DM requer mais tempo do que DM1 clássico (por definição, LADA aparece em pessoas com mais de 30 anos de idade), frequentemente em adição de outros fatores diabetogênicos (como resistência à insulina e/ou insuficiência função das células β). Os pacientes ultrapassam o limiar para o DM, mas ainda são independentes de insulina (como no DM2) por pelo menos 6 meses (por definição) até que uma nova perda de células β cause dependência de insulina (como no DM1 clássico).	DM com elementos de DM1 (geralmente autoimunidade de ilhotas) e DM2 (por exemplo, resistência à insulina). Quando presentes durante os estágios pré-clínicos do DM1, os fatores de risco do DM2 podem influenciar o risco e a taxa de progressão da autoimunidade das ilhotas e o desenvolvimento do DM1 clínico (estágio 3). Em pacientes com autoimunidade lentamente progressiva das ilhotas (portanto, em risco de LADA ou SPIDDM), DM2 pode ser um fator definitivo na progressão para DM1. Se o DMD constitui um endotipo não está claro.

<i>Diabetes mellitus dependente de insulina lentamente progressivo (SPIDDM)</i>	<i>Diabetes mellitus 1,5 (DM1,5)</i>
Causado pela destruição autoimune lentamente progressiva das células β e, portanto, a progressão para DM clínico leva mais tempo do que no DM1 típico, como no LADA. O DM clínico se desenvolve em uma idade mais avançada do que no DM1 típico e muitas vezes o faz com a ajuda de mecanismos adicionais relacionados ao DM2. Ao contrário do LADA, a definição do SPIDDM não se limita a indivíduos >30 anos que tiveram pelo menos 6 meses de independência de insulina.	Este termo é frequentemente aplicado em dois contextos: primeiro, como sinônimo de DMD: DM com elementos de DM1 (geralmente autoimunidade de ilhotas) e DM2 (por exemplo, resistência à insulina). Segundamente, o DM1 lentamente progressivo que inicialmente se apresenta como não dependente de insulina (frequentemente levando a um diagnóstico incorreto de DM2, particularmente se os autoanticorpos das ilhotas não forem medidos), mas progride à dependência de insulina mais rapidamente do que o esperado para o DM2, que muitas vezes solicita testes que revelam positividade de autoanticorpos e uma revisão do diagnóstico como DM1.

Abreviações: DM: *Diabetes mellitus*, DM1: *Diabetes mellitus* tipo 1; DM2: *Diabetes mellitus* tipo 2; DMD: *Diabetes mellitus* duplo; DM1,5: *Diabetes mellitus* 1,5; LADA: *latent autoimmune diabetes of adults*; SPIDDM: *slowly progressive insulin dependent Diabetes mellitus*.

Referências: 1. Juneja e Palmer (1999)

Fonte: Redondo e Morgan (2023).

Foi proposto que o LADA representa outro endotipo de DM (REDONDO; RICHARDSON; PERRY; MINARD *et al.*, 2023). No entanto, Redondo e Morgan (2023) não acreditam que até o momento haja evidência de que o mecanismos patogênicos, que levam à perda da função das células β no LADA, ou no SPIDDM, possam ser diferentes do DM1E2 (REDONDO; MORGAN, 2023). Em vez disso, essas formas, fenotipicamente diferente do DM1 clássico, podem ser explicadas por um menor grau de gravidade e uma taxa mais lenta de progressão da doença em comparação com o DM1E2. Para aumentar a controvérsia em curso, outros investigadores argumentam que LADA representa uma mistura de dois subconjuntos de indivíduos com ou DM1 ou DM2 (POWERS, 2021).

2.2.6.3 Mecanismos patogênicos do DM2 em indivíduos com DM1E2

Resistência à insulina, obesidade ou associações genéticas específicas de DM2 (FERRARA; GEYER; EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2017;

REDONDO; GEYER; STECK; SOSENKO *et al.*, 2018; REDONDO; SOSENKO; LIBMAN; MCVEAN *et al.*, 2020), podem acompanhar não apenas LADA ou SPIDDM, mas também o DM1 clássico (FERRARA-COOK; GEYER; EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2020; FERRARA; GEYER; EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2017; REDONDO; GEYER; STECK; SOSENKO *et al.*, 2018; REDONDO; MUNIZ; RODRIGUEZ; IYER *et al.*, 2014; REDONDO; NATHAN; JACOBSEN; SIMS *et al.*, 2021; REDONDO; SOSENKO; LIBMAN; MCVEAN *et al.*, 2020).

Como o DM2 raramente se desenvolve em crianças pré-púberes (ASTUDILLO; TOSUR; CASTILLO; RAFAEY *et al.*, 2021), essa forma de diabetes coexiste mais frequentemente nas fases pré-clínicas, com DM1E2, que se desenvolve após os 7 anos de idade. A resistência à insulina, obesidade e genes que estão tipicamente associados ao DM2 podem modificar a progressão da autoimunidade das ilhotas, acelerar o diagnóstico do DM1 e modificar sua apresentação clínica e seu curso (REDONDO; EVANS-MOLINA; STECK; ATKINSON *et al.*, 2019).

Além disso, a influência da obesidade no início e progressão da autoimunidade (FERRARA-COOK; GEYER; EVANS-MOLINA; LIBMAN *et al.*, 2020), sugere que os mecanismos relacionados à obesidade podem ser alvos para a prevenção do DM em pessoas com positividade para autoanticorpos.

Os fatores de risco do DM2 são variáveis contínuas sem limiares precisos e, portanto, utilizá-los como critérios para uma classificação rígida continuará a deixar heterogeneidade dentro e sobreposições entre as categorias (REDONDO; HAGOPIAN; ORAM; STECK *et al.*, 2020). Uma abordagem alternativa é evitar uma maior categorização do DM e simplesmente avaliar, em cada indivíduo com DM1, se a presença e o grau dos mecanismos de DM2 justificam tratamento específico ou medidas preventivas (REDONDO; MORGAN, 2023).

2.2.7 Diagnóstico do *Diabetes mellitus* tipo 1

Na infância, o DM1 tem aumento de incidência de acordo com a idade, atingindo seus principais picos ao 5 e 7 anos, ou no início da puberdade, entre 10 e 14 anos de idade (TERADA; URAKAMI; NAGANO; MINE *et al.*, 2023). Sendo assim, a incidência de DM1 diminui após os 14 anos de idade, persistindo

nesse contexto até a fase adulta, em que os diagnósticos podem ocorrer (REGNELL; LERNMARK, 2017; TERADA; URAKAMI; NAGANO; MINE *et al.*, 2023).

Pacientes com DM1, geralmente apresentam sintomas agudos de diabetes (poliúria, polidipsia, noctúria, enurese, perda de peso) e concentrações plasmáticas de glicose no sangue marcadamente elevadas, e 40-60% são diagnosticados com cetoacidose diabética com risco de vida (ALONSO; COAKLEY; PYLE; MANSEAU *et al.*, 2020; JENSEN; STAFFORD; SAYDAH; D'AGOSTINO *et al.*, 2021; REWERS; DONG; SLOVER; KLINGENSMITH *et al.*, 2015). Os sintomas clássicos associados à glicose plasmática aleatória $\geq 200\text{mg/dL}$ aparecem como marcas de diagnóstico de DM1 em crianças e adolescentes e em menor proporção em adultos (ADA, 2022).

Tendo em vista a característica fisiopatológica do DM1 clássico, essa doença pode ser detectada por meio da dosagem de autoanticorpos contra as ilhotas pancreáticas, como ocorre em doenças de cunho autoimune (ATKINSON; EISENBARTH, 2001; HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022). Mais de 90% dos indivíduos com *Diabetes mellitus* tipo 1 com o diagnóstico recente, apresentam ou mais autoanticorpos, como os autoanticorpos contra as ilhotas (*islet cell autoantibodies* – ICA), autoanticorpos contra a insulina (*insulin autoantibodies* - IAA), autoanticorpos contra ácido glutâmicodecarboxilase (glutamic acid decarboxylase - GAD65) e autoanticorpos antitirosina fosfatase IA2 (*insulinoma-associated autoantigen 2* - IA2A) (ATKINSON; EISENBARTH, 2001; KATSAROU; GUDBJORNSDOTTIR; RAWSHANI; DABELEA *et al.*, 2017). De acordo com a mais recente recomendações clínicas da ADA, a presença de vários anticorpos de ilhotas é considerada um risco fator para diabetes clínico e sua detecção é recomendada para triagem para o DM1 pré-sintomático (ADA, 2022).

Embora a presença de anticorpos de ilhotas pode ser encontrada em maioria dos pacientes com DM1, a ausência dos autoanticorpos, no entanto, não exclui o DM1, uma vez que aproximadamente 5-10% dos europeus brancos com DM1 de início recente têm anticorpos negativos para ilhotas (HOPE; WIENAND-BARNETT; SHEPHERD; KING *et al.*, 2016; SHIELDS; PETERS; COOPER; LOWE *et al.*, 2015). Além disso, os anticorpos podem desaparecer com o tempo (TRIDGELL; SPIEKERMAN; WANG; GREENBAUM, 2011).

É importante salientar que o DM1 se manifesta de diferentes formas em crianças e adultos. Portanto, o diagnóstico da condição deve ser conduzido de forma singular para cada faixa etária (MAYFIELD, 1998). A seguir, os critérios de investigação e confirmação do diagnóstico serão apresentados para cada população.

2.2.8 O *Diabetes mellitus* tipo 1 infanto-juvenil

De modo geral, o DM1 é diagnosticado antes da fase adulta. Embora seus sinais e manifestações clínicas possam ocorrer em qualquer idade, o diagnóstico é mais comum em dois picos: na infância, entre 4 e 6 anos, ou no início da puberdade, entre 10 e 14 anos de idade (LI; HUANG; GAO, 2017).

O DM1 é responsável por 90% dos casos de diabetes de início na infância. Entretanto, apenas 50% dos casos são diagnosticados antes da adolescência (COLMAN; THOMAS; ZIMMET; WELBORN *et al.*, 1999; MAYFIELD, 1998). Por outro lado, o DM2 é mais raro na população infanto-juvenil. Tendo em vista a progressão lenta da doença, que muitas vezes ocorre em crianças muito pequenas, com idade média de 5 anos, os sinais e sintomas da condição, muitas vezes, passam despercebidos (KATSAROU; GUDBJORNSDOTTIR; RAWSHANI; DABELEA *et al.*, 2017).

Os critérios de diagnóstico de DM, em crianças e adolescentes, seguem as diretrizes estabelecidas por entidades que são referência no manejo da doença, a Sociedade Americana de Diabetes (ADA, *American Diabetes Association*) (ADA, 2023) e Sociedade Internacional do Diabetes Pediátrico e Adolescente (ISPAD, *International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes*) (DIMEGLIO; ACERINI; CODNER; CRAIG *et al.*, 2018).

Se os sintomas estiverem presentes, a medição de glicose e cetonas usando um glicosímetro à beira do leito ou o teste urinário com fitas reativas para glicosúria e cetonúria (se um sistema de automação não estiver disponível) fornece uma ferramenta de triagem simples e sensível. Se as concentrações plasmáticas de glicose estiverem elevadas, o encaminhamento imediato para um centro ou instalação com experiência no tratamento de crianças com diabetes é essencial. Esperar mais um dia especificamente para confirmar a hiperglicemia é desnecessário, e se as cetonas estiverem presentes no sangue ou na urina, o

tratamento é urgente, pois a cetoacidose pode evoluir rapidamente (DIMEGLIO; ACERINI; CODNER; CRAIG *et al.*, 2018). A ADA (2023) recomenda que as crianças e adolescentes com sobrepeso ou obesidade com suspeita de ter DM2 devem ser testadas para um painel de autoanticorpos pancreáticos para garantir que elas não sofram de DM1 (DRAZNIN; ARODA; BAKRIS; BENSON *et al.*, 2022).

O IAA é um melhor marcador para crianças menores de 5 anos, sendo menos frequente em adultos (HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022). Contudo, o IAA é encontrado no soro de pessoas sob terapia insulínica, não é indicado para diagnóstico nessas circunstâncias. Já o anti-IA2 é mais comum em jovens, indicando progressão para o DM clínico. A positividade de 2 ou mais anticorpos ocorre em 1:350 indivíduos e está relacionada a risco alto para DM1 (BEUNEN; VERCAUTER; VAN CROMBRUGGE; MOYSON *et al.*, 2022; HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022).

Um estudo que acompanhou crianças com DM1, verificou que não havia autoanticorpos detectáveis no ato do diagnóstico, apresentaram graus de descompensação da doença semelhantes às que tinham anticorpos positivos. Isso demonstra que a presença de autoanticorpos não está relacionada a gravidade da doença (BEUNEN; VERCAUTER; VAN CROMBRUGGE; MOYSON *et al.*, 2022; HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022)

É possível que DM1 e DM2 coexistam em pacientes pediátricos, quando anticorpos para células β -pancreáticas são encontrados em uma criança com DM2, ou quando uma criança com DM1 está com obesidade ou algum nível de sobrepeso (POZZILLI; PIERALICE, 2018).

Face a esse contexto, evidencia-se a suma importância de estabelecer metodologias de diagnóstico precoce de DM na população infanto-juvenil, bem como a condução de testes que possam esclarecer o endotipo da doença (INSEL; DUNNE; ATKINSON; CHIANG *et al.*, 2015).

2.2.9 O *Diabetes mellitus* tipo 1 na fase adulta

De acordo com o supracitado, embora o diagnóstico seja mais comum antes dos 20 anos de idade, o DM1 pode ser desenvolvido na idade adulta. Alguns pacientes com diabetes de início na idade adulta têm características

mistas, do DM1 e DM2 (KISAND; UIBO, 2012; ROSARIO; REIS; FAGUNDES; CALSOLARI *et al.*, 2007). Como o que ocorre em pacientes com DM1, portadores de LADA também produzem autoanticorpos, que por sua vez, que atacam as células beta do pâncreas (REDONDO; MORGAN, 2023). No entanto, a diferença primordial entre essas duas formas de diabetes está na quantidade de insulina secretada. Em pacientes com LADA, a secreção hormonal pode ser suficiente, sem que haja necessidade de administração de insulina (HUMMEL, 2020).

Desta forma, na população adulta, o diagnóstico do DM1 é mais desafiador, tendo em vista que nessa faixa etária, o DM2 possui maior incidência e alguns adultos não necessitam da terapia insulínica no ato do diagnóstico, o que pode resultar em um diagnóstico incorreto, e, conseqüentemente, em um tratamento inadequado (BURGI; VILLIGER; DIEM, 1995).

Os sintomas clássicos do diabetes, como a glicose ao acaso $\geq 200\text{mg/dL}$, que são marcas do diagnóstico de DM1 em crianças e adolescentes, ocorrem em menor proporção em adultos (ADA, 2023). As características que direcionam o diagnóstico na fase adulta são a idade é a idade do diagnóstico (<35 anos), o menor IMC ($<25\text{kg/m}^2$), aliado a perda de peso não intencional, cetoacidose e hiperglicemia pronunciada (glicose $>360\text{mg/dL}$) (ALBERTI; ZIMMET, 1998; KALIDOSS; UMAPATHY, 2019).

De acordo com o supracitado, na presença de sinais e sintomas em adultos com idade inferior a 35 anos, o diagnóstico de DM1 é o mais previsível, principalmente quando não houver características clínicas de DM2 ou diabetes monogênico (TAYLOR, 2013). Já para os maiores de 35 anos, com ausência autoanticorpos de ilhotas e idade avançada, o DM2 passa a ser o mais provável. Todavia, é importante salientar as dificuldades de diferenciar o DM1 do DM2 com base sobre a idade e características clínicas, particularmente em populações europeias não brancas (TOSUR; PHILIPSON, 2022).

Em adultos com DM1, o autoanticorpo o anti-GAD65 é mais frequentemente positivo, com sensibilidade de 70 a 80% para o diagnóstico do quadro. Os diversos autoanticorpos, associados ao DM1, tendem a ser menos prevalentes com o aumento da idade ao diagnóstico, com exceção do anti-GAD65 (TUOMI; GROOP; ZIMMET; ROWLEY *et al.*, 1993). Portanto, esse é o marcador autoimune adequado para a população adulta, independentemente da

necessidade de tratamento com insulina no diagnóstico e etnia (GHOZZI; SOUGUIR; MELAYAH; ABIDI *et al.*, 2021).

Para indivíduos com sintomas clínicos que sugerem DM1, a presença de um ou mais autoanticorpos para as ilhotas pancreáticas, prediz progressão rápida da doença, bem como deficiência severa de insulina (GILLESPIE, 2006). Pessoas com essas características, mesmo que não tenham necessidade de terapia com insulina no ato a descoberta, devem ser considerados portadores de DM1 (BEUNEN; VERCAUTER; VAN CROMBRUGGE; MOYSON *et al.*, 2022).

Outra dosagem que pode ser útil no diagnóstico de DM1, embora não esteja listado como critério oficial, é o de peptídeo-C, que avalia a capacidade das células β do pâncreas de secretar insulina. Em 1967, Steiner e colaboradores descreveram a síntese de insulina e identificaram uma molécula precursora do hormônio, a pró-insulina. O peptídeo-C liga as cadeias A e B na pró-insulina, facilitando seu processamento ao hormônio final biologicamente ativo (JONES; HATTERSLEY, 2013). Após a clivagem da pró-insulina, o peptídeo-C fica armazenado em conjunto com a insulina, sendo posteriormente secretados em conjunto, em quantidades equimolares (LUDVIGSSON, 2013).

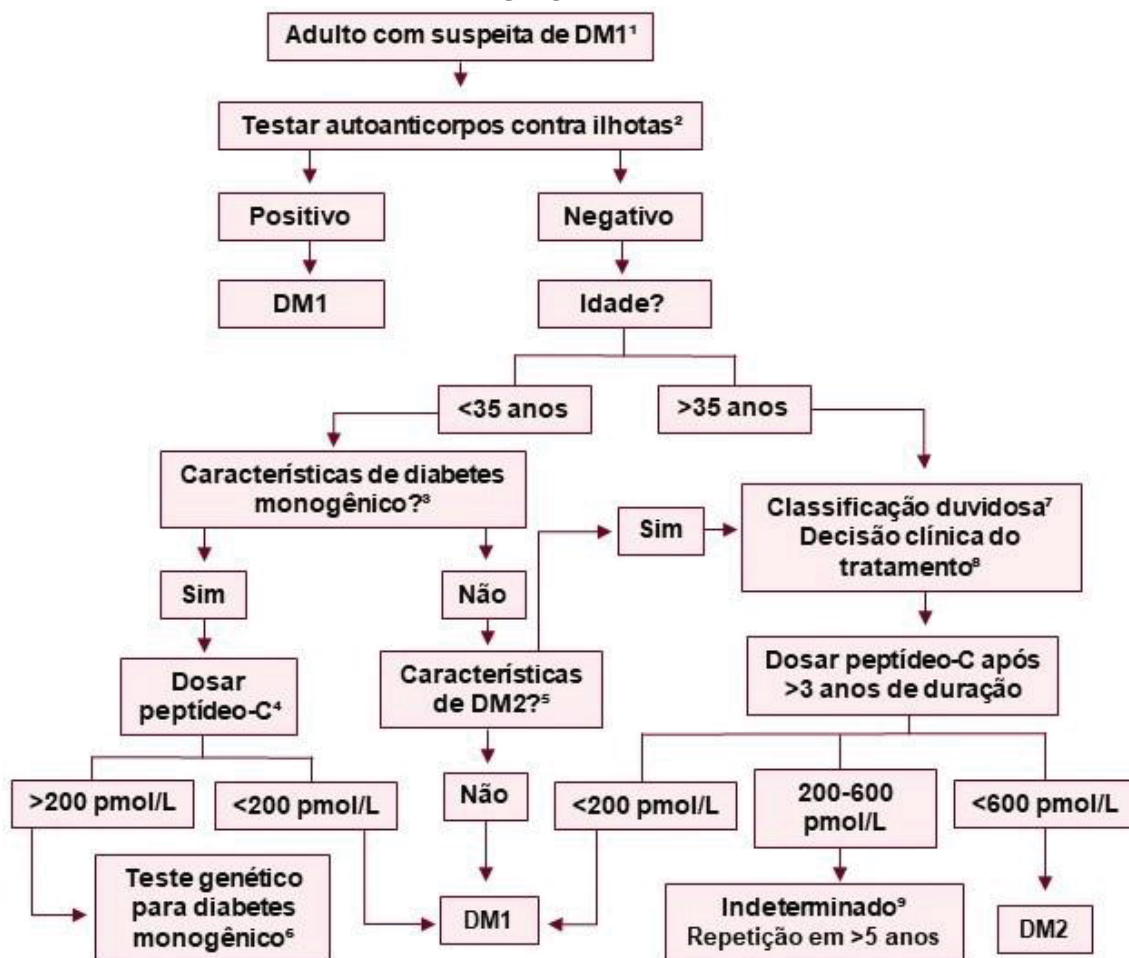
Nesse contexto, o peptídeo-C pode ser considerado como um marcador independente da secreção pancreática do hormônio insulina (LUDVIGSSON, 2013). Logo, a dosagem desse marcador não deve ser realizada em pacientes que estão em terapia com insulina, ao menos que o uso seja descontinuado. Os resultados obtidos para a dosagem de peptídeo-C podem direcionar o diagnóstico (JONES; HATTERSLEY, 2013). Os resultados obtidos são avaliados juntamente com os sinais clínicos do paciente, observados e obtidos durante anamnese.

Um consenso entre entidades da área sugere um algoritmo para identificar os adultos com DM1. Parte do processo envolve testar todos os adultos com sinais de diabetes para autoanticorpos, especificamente para o autoanticorpo dominante, o anti-GAD65 (BUZZETTI, R.; DI PIETRO, S.; GIACCARI, A.; PETRONE, A. *et al.*, 2007; HOLT, R. I. G.; DEVRIES, J. H.; HESS-FISCHL, A.; HIRSCH, I. B. *et al.*, 2021).

Embora exista um consenso generalizado de que esses três biomarcadores (risco genético, autoanticorpos associados ao diabetes e peptídeo C) aliados a cuidados a avaliação clínica pode ser valiosa (BUZZETTI,

RAFFAELLA; DI PIETRO, SERGIO; GIACCARI, ANDREA; PETRONE, ANTONIO *et al.*, 2007; HOLT, RICHARD I. G.; DEVRIES, J. HANS; HESS-FISCHL, AMY; HIRSCH, IRL B. *et al.*, 2021; LESLIE; EVANS-MOLINA; FREUND-BROWN; BUZZETTI *et al.*, 2021), a aplicação destes testes aplicados em uma base populacional seria caro, muitas vezes enganoso devido à falta de especificidade da doença e, em países com poucos recursos, inaceitavelmente caro. O algoritmo para investigação da suspeita de casos de DM1 em adultos, está esquematizado na Figura 4 abaixo.

FIGURA 4 – FLUXOGRAMA DO ALGORITMO PARA INVESTIGAÇÃO DE SUSPEITA DE *Diabetes mellitus* TIPO 1 EM ADULTOS RECÉM DIAGNOSTICADOS, COM BASE EM DADOS DE POPULAÇÕES BRANCAS EUROPEIAS



¹Características isoladas não confirmam o DM1. Os sinais mais discriminativos são: a idade menor de 35 anos no ato do diagnóstico, baixo IMC (<25 kg/m²), perda de peso não intencional, cetoacidose e glicemia pronunciada (>360 mg/dL). Outras características clássicas também são

importantes, como cetose sem acidose, histórico familiar de *Diabetes mellitus* tipo 1 e/ou outras doenças autoimunes. ²O anti-GAD65 deve ser o primeiro autoanticorpo avaliado. Quando negativo, deve ser realizada a dosagem de tirosina fosfatase 2 de ilhota (IA2). Em adultos com idade inferior a 35 anos com resultado negativo para autoanticorpos, sem sinais de DM2 ou diabetes monogênico, deve-se manter o diagnóstico de DM1, tendo em vista que de 5 a 10% dos portadores de DM1 não apresentam anticorpos. ³Sugere-se diabetes monogênico na presença de uma ou mais das seguintes características: HbA1c <7,5% no momento do diagnóstico, um dos pais com diabetes, características de causa monogênica específica (cistos renais, lipodistrofia parcial, surdez hereditária materna e resistência severa à insulina. ⁴A dosagem do peptídeo-C é indicada para indivíduos que estão sob terapia insulínica, ao menos que ocorra a descontinuação da insulina (para excluir deficiência grave de insulina). Não dosar peptídeo C dentro de 2 semanas de uma emergência hiperglicêmica. ⁵O DM2 tem como características o aumento do IMC (≥ 25 kg/m²), ausência de cetoacidose e hiperglicemia menos acentuada. Características menos discriminatórias incluem etnia não branca, histórico familiar, maior duração e menor severidade dos sintomas, sinais da síndrome metabólica e ausência de familiares com autoimunidade. ⁶Quando o teste genético não confirma o diabetes monogênico, a classificação não é clara e uma decisão clínica deve ser tomada sobre o tratamento. Em alguns casos, a terapia com insulina não é necessária, no entanto, a decisão cabe a equipe médica. ⁷O DM2 deve ser fortemente considerado em indivíduos mais velhos. Em alguns casos, cabe uma investigação de diabetes pancreático, ou outras manifestações da doença. ⁸Uma pessoa com vestígios de DM1, e que não é tratada com insulina, exigirá monitoramento cuidadoso e constante. ⁹Valores de peptídeo-C de 200-600 pmol/L, geralmente são consistentes com DM1 ou diabetes de início na maturidade dos jovens (MODY). Entretanto, pode ocorrer em DM2 tratado com insulina.

Fonte: Adaptado de Holt e colaboradores (2021).

Uma abordagem resumida aliada a uma recente declaração de consenso sobre as diretrizes para o manejo de pessoas com DM1 que não necessitam de insulina, também conhecido como LADA ilustra as limitações e incertezas em torno da proposta algoritmos para a classificação do diabetes de início na idade adulta (BUZZETTI, RAFFAELLA; DI PIETRO, SERGIO; GIACCARI, ANDREA; PETRONE, ANTONIO *et al.*, 2007; HOLT, RICHARD I. G.; DEVRIES, J. HANS; HESS-FISCHL, AMY; HIRSCH, IRL B. *et al.*, 2021; LESLIE; EVANS-MOLINA; FREUND-BROWN; BUZZETTI *et al.*, 2021).

Segundo o exposto por Tuomi e colaboradores, 1993, que introduziram o conceito de LADA, essa condição contempla adultos diabéticos que podem não ter necessidade de introdução de insulina inicialmente, mas que apresentam autoanticorpos contra as células beta do pâncreas e rápida progressão para insulino-dependência (TUOMI; GROOP; ZIMMET; ROWLEY *et al.*, 1993).

A prevalência de LADA tem sido estimada em várias populações. Os critérios utilizados para essa análise envolvem, principalmente, a idade de diagnóstico e a presença de autoanticorpos (HOSSZUFALUSI; VATAY; RAJCZY; PROHASZKA *et al.*, 2003). Os autoanticorpos avaliados no LADA são os mesmos presentes nos pacientes com DM1, sendo: GAD, IA-2 e ICA. Em um estudo conduzido na Itália, com 143 pessoas em idade superior a 40 anos,

verificou-se que os autoanticorpos anti-GAD estavam presentes em 2,8% deles (HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022; LIU; XIANG; LIU; ZHOU, 2020).

A caracterização clínica inicial diferencia as duas formas de diabetes associadas aos autoanticorpos no adulto, LADA e DM1. Nos pacientes com LADA, há ausência de sinais e sintomas relacionados a cetoacidose diabética. Esses pacientes também não apresentam hiperglicemia acentuada sintomática nos primeiros meses após o diagnóstico (HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022; LIU; XIANG; LIU; ZHOU, 2020; LUKAWSKA-TATARCZUK; PAWLAK; ZIELINSKI; FRANEK *et al.*, 2022). Portanto, não utilizam insulinoterapia logo após a descoberta da condição (GOTTSATER; LANDIN-OLSSON; LERNMARK; FERNLUND *et al.*, 1995; ROSARIO; REIS; FAGUNDES; CALSOLARI *et al.*, 2007; TUOMI; GROOP; ZIMMET; ROWLEY *et al.*, 1993). Nesse período, o LADA assemelha-se ao DM2. Já o DM1 define-se pela presença dos sintomas clássicos da condição, como hiperglicemia, poliúria, polidipsia, perda de peso não intencional, cetonúria e até mesmo CAD. Para esses pacientes, há necessidade de insulinização no ato do diagnóstico, ou o mais rápido possível (ALBERTI; ZIMMET, 1998; HOSSZUFALUSI; VATAY; RAJCZY; PROHASZKA *et al.*, 2003).

Para elucidação do caso clínico, os títulos de anti-GAD são de suma importância. Como a autoimunidade e a resistência perante o hormônio insulina coexistem no LADA, existem evidências que indicam que esses fatores combinados, pode refletir nos títulos de anti-GAD (HENSMAN; GOOLEY; JANUSZEWSKI; LEE *et al.*, 2022; LIU; XIANG; LIU; ZHOU, 2020). Indivíduos com combinação de autoanticorpos, ICA e GAD ou GAD em altos títulos, tem mais frequentemente deficiência de insulina, bem como características fenotípicas semelhantes aos *Diabetes mellitus* tipo 1 (TUOMI; GROOP; ZIMMET; ROWLEY *et al.*, 1993). A positividade para somente um anticorpo, ou anti-GAD em baixos títulos associam-se com características clínicas e metabólicas do *Diabetes mellitus* tipo 2 (BUZZETTI, R.; DI PIETRO, S.; GIACCARI, A.; PETRONE, A. *et al.*, 2007; LOHMANN; KELLNER; VERLOHREN; KRUG *et al.*, 2001).

2.2.10 Genes envolvidos no *Diabetes mellitus* tipo 1

Embora esteja bem estabelecido que as principais associações genéticas com doenças autoimunes envolvem a região do antígeno leucocitário humano (*Human Leukocyte Antigen* - HLA) de classe II (GREGERSEN; BEHRENS, 2006), outras variantes comuns têm sido identificadas (BARRETT; CLAYTON; CONCANNON; AKOLKAR *et al.*, 2009; GREGERSEN; BEHRENS, 2006).

Os genes que codificam moléculas HLA estão localizados dentro do Complexo Principal de Histocompatibilidade (*Major Histocompatibility Complex* - MHC) no braço curto do cromossomo 6. O MHC é dividido em classe I (HLA-A, -B e -C), classe II (HLA-DR, -DQ e -DP) e classe III (genes para componentes do complemento). As proteínas codificadas pelos genes de classe I e a classe II são glicoproteínas da superfície celular transmembrana, que são criticamente envolvidos na apresentação de antígenos próprios e estranhos como peptídeos curtos para linfócitos T (BUZZETTI; TUOMI; MAURICIO; PIETROPAOLO *et al.*, 2020). A evidência é que os genes de classe II são mais importantes que os genes de classe I e que os genes DQ são mais importantes que os genes DR. Os principais genes para DM1, HLA-DQB1 e HLA-DRB1 no cromossomo 6p21.3, representam aproximadamente 50% da suscetibilidade genética (BARRETT; CLAYTON; CONCANNON; AKOLKAR *et al.*, 2009; POCIOT; AKOLKAR; CONCANNON; ERLICH *et al.*, 2010). Essa associação do HLA é mais pronunciada no DM1 com início na juventude em comparação com o DM1 com início na idade adulta (LESLIE; EVANS-MOLINA; FREUND-BROWN; BUZZETTI *et al.*, 2021).

Variantes de risco de DM1, além do HLA, conferem risco ou proteção para o DM1 e outras doenças autoimunes (BARANZINI, 2009; FORTUNE; GUO; BURREN; SCHOFIELD *et al.*, 2015; LETTRE; RIOUX, 2008; RIOUX; ABBAS, 2005; ZENEWICZ; ABRAHAM; FLAVELL; CHO, 2010). Por exemplo, o gene antígeno 4 do linfócito T citotóxico (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4* – CTLA-4) e o gene tirosina fosfatase não-receptora 22 (*protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22* - PTPN22) (ARMITAGE; WALLET; MATHEWS, 2021; NIECHCIAL; BUTTER; MANZ; OBIALO *et al.*, 2020; WIEDE; LU; DU; LIANG *et al.*, 2020). Mais de 60 polimorfismos genéticos além dos alelos HLA foram associados ao risco de DM1 (KORMENDY; HOFF; HOFF; BROKER

et al., 2013; STORLING; POCIOT, 2017).

Polimorfismos genéticos na região a montante do promotor do gene da insulina (*INS*), bem como nos genes *CTLA4*, *PTPN22*, *IRS-1*, *ICOS* e *SUMO4* conferem um risco substancial para DM1, com uma razão de chances (*Odds Ratio* - OR) entre 1,8 e 2.5 (JERRAM; LESLIE, 2017).

Foi demonstrado que em pacientes com LADA os alelos de risco do gene que codifica a insulina eram tão prevalentes em LADA quanto em DM1 com início na infância, consistente com vias relacionadas à insulina desempenhando um papel importante no DM1 independentemente da idade de início ou modo de início (MISHRA; CHESI; COUSMINER; HAWA *et al.*, 2017).

Estudos genéticos identificaram vários polimorfismos dentro de um número seletivo de genes *PTPN* associados ao DM1 ou DM2. Polimorfismos para os genes *PTPN2* e *PTPN22* que codificam uma tirosina fosfatase linfóide, em particular, exibem forte associação com DM1 (SHAW; QASEM; NASER, 2021; TAVARES; SANTOS; MOURA; ARAUJO *et al.*, 2015).

2.3 FAMÍLIA DE GENES *PTPN*

São muitos os genes identificados como causadores de predisposição ao DM1. Esses genes atuam das mais variadas formas, apresentando diversas relações com a fisiopatologia do DM1. Podem estar envolvidos, por exemplo, na codificação de proteínas que regulam transdução de sinais em linfócitos, macrófagos ou células dendríticas (DOUROUDIS; KISAND; NEMVALTS; RAJASALU *et al.*, 2010). Entre eles, destaca-se o papel dos genes da família *PTPN*, que codificam proteínas tirosina fosfatase (PTPs), que por sua vez, atuam na sinalização de moléculas que modulam e regulam processos celulares tais como, crescimento, diferenciação celular, ciclo mitótico, transformação oncogênica e sobrevivência das células (CEROSALETTI; BUCKNER, 2012).

As proteínas tirosina fosfatases desempenham um papel fundamental na regulação da sinalização celular, por meio da remoção de grupos fosfato de resíduos de tirosina em proteínas (HARDER; MOLLER; PEACOCK; JIRIK, 1998; HUBBARD; TILL, 2000). Essas enzimas são altamente específicas para resíduos de tirosina e, portanto, são capazes de modular a atividade de uma

ampla gama de proteínas regulatórias (BOTTINI; MUSUMECI; ALONSO; RAHMOUNI *et al.*, 2004).

A fosforilação de proteínas é um processo crítico na regulação da sinalização celular. A fosforilação ocorre quando um grupo fosfato é adicionado a um resíduo de aminoácido em uma proteína, geralmente uma serina, treonina ou tirosina. Isso pode alterar a atividade, localização ou interações da proteína e, portanto, afetar a sinalização celular (BILBROUGH; PIEMONTESE; SEITZ, 2022).

Estudos genéticos e bioquímicos demonstraram que as proteínas tirosina fosfatase exercem efeitos que regulam tanto negativamente, como positivamente, nas vias de sinalização, bem como nas de controle fisiológico de uma variedade de tecidos (ZHANG; ZHOU; XIE, 2002).

As PTPs são consideradas reguladoras da transdução de sinais, tendo em vista seu papel enzimático na neutralização da ação das proteínas tirosinas quinases (PTKs) (BOTTINI; MUSUMECI; ALONSO; RAHMOUNI *et al.*, 2004; SACCHETTI; BOTTINI, 2017), proteínas são altamente expressas em grande parte das células que contemplam o sistema imune. O equilíbrio dinâmico entre PTPs e PTKs, com fosforilação de tirosina e desfosforilação de moléculas, é essencial para o manutenção da homeostase (HUBBARD; TILL, 2000).

Enquanto as PTKs adicionam grupos fosfato a resíduos de tirosina em proteínas (HUBBARD; TILL, 2000), as PTPs removem esses grupos fosfato. Juntas, as atividades dessas enzimas ajudam a regular a atividade das proteínas envolvidas na sinalização celular (BILBROUGH; PIEMONTESE; SEITZ, 2022; HARDER; MOLLER; PEACOCK; JIRIK, 1998).

As PTKs são ativadas por diversos fatores, como hormônios, fatores de crescimento e citocinas. Quando ativadas, as PTKs adicionam grupos fosfato a resíduos de tirosina em proteínas receptoras de membrana ou proteínas adaptadoras intracelulares (BILBROUGH; PIEMONTESE; SEITZ, 2022; WAGNER; MEI; HUGANIR, 1991). Esse processo desencadeia uma cascata de sinalização que resulta em mudanças na atividade celular, incluindo proliferação celular, diferenciação e sobrevivência. As PTPs, por outro lado, desempenham um papel oposto às PTKs, removendo grupos fosfato de resíduos de tirosina em proteínas. Isso pode levar à inibição da sinalização celular ou à modulação da

atividade proteica (HARDER; MOLLER; PEACOCK; JIRIK, 1998; LI; ZHANG; LIU; WANG *et al.*, 2022).

Nesse contexto, as PTPs atuam na hidrólise do fosfato ligado a resíduos de tirosina em proteínas. Sendo assim, elas controlam os níveis de fosforilação de proteínas tirosina, desempenhando um papel singular na sinalização celular perante o sistema imunológico, que envolve processos como a diferenciação, proliferação e ativação de linfócitos (GIANCHECCHI; PALOMBI; FIERABRACCI, 2013).

Alterações nessas proteínas PTPs, como a ocorrência de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) não sinônimos, podem resultar em fosforilação inadequada de resíduos de tirosina. Isso que pode contribuir para o desenvolvimento de várias patologias, como neoplasias, diabetes e doenças resultantes de discordâncias imunológicas (ALONSO; SASIN; BOTTINI; FRIEDBERG *et al.*, 2004).

Sabe-se que o genoma humano codifica 107 PTPs distintas, estruturalmente diversas. São caracterizadas por aproximadamente 200 a 240 aminoácidos, com domínio altamente conservado (CEROSALETTI; BUCKNER, 2012). Ou seja, possuem uma sequência consenso no sítio catalítico, característico dessas proteínas, ([I/V]HCXAGXXR[S/T]G), onde: I – isoleucina, V – valina, H – histidina, C – cisteína, A – alanina, G – glicina, R – arginina, S – serina, T – treonina e X – que corresponde a qualquer aminoácido, compartilhando um padrão de sítio ativo constituído de uma cisteína e uma arginina, essenciais para a catálise enzimática (PENAFUERTE; FELDHAMMER; MILLS; VINETTE *et al.*, 2017). Essa assinatura clássica abrange uma cisteína invariante (Cys), que é crítica para a atividade das PTPs (PENAFUERTE; FELDHAMMER; MILLS; VINETTE *et al.*, 2017). As PTPs são divididas em famílias, subfamílias e subgrupos, de acordo com os aminoácidos presentes no sítio catalítico (WELSH; PANDEY; AHUJA, 2021).

Muitas PTPs tiveram seus papéis reconhecidos, no que se refere a manter a resposta imune adequada, bem como na autotolerância (CHEN; HSIEH; CHU; CHEN *et al.*, 2023). Dentre elas, *PTPN2* (*Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 2*; Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 2) e *PTPN22* (*Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22*; Proteína

tirosina fosfatase não receptora tipo 22), que terão suas funções abordadas e discutidas a seguir.

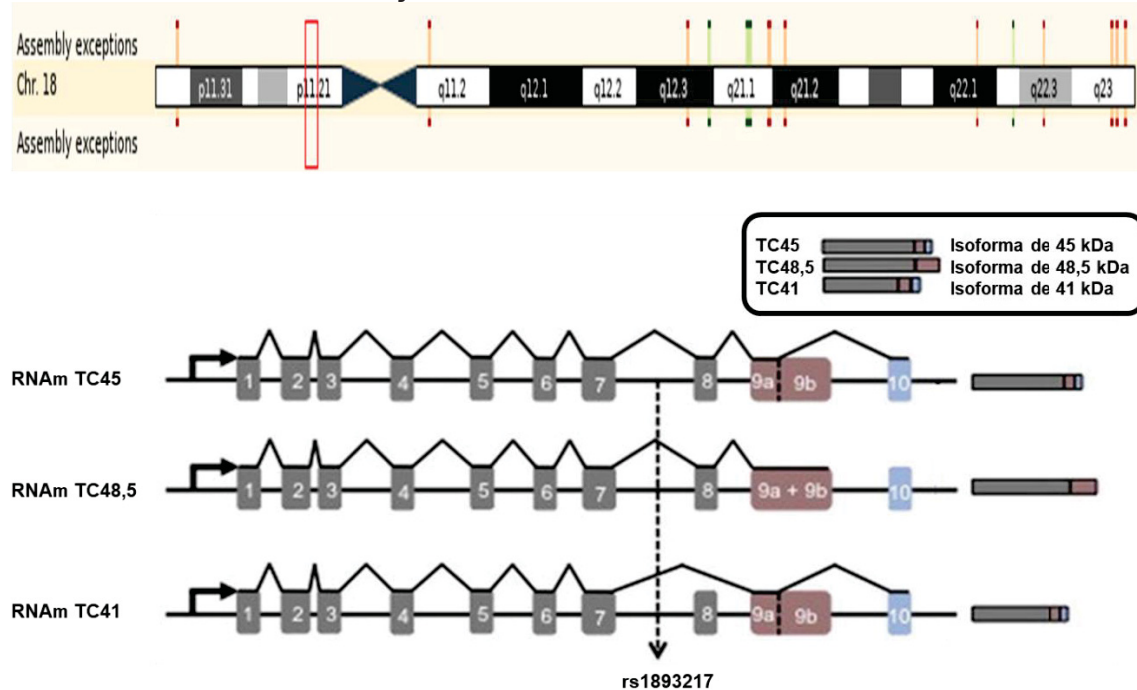
2.3.1 *Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 2 (PTPN2)*

O gene *PTPN2* faz parte do subgrupo intracelular não-receptor, da subfamília PTP e da família cisteína I (SEVILLANO; SANCHEZ-ALONSO; PIZARRO-DELGADO; RAMOS-ALVAREZ, 2021). Esse gene codifica uma proteína chamada de proteína tirosina fosfatase não-receptora tipo 2, que integra o grupo de PTPs sinalizadoras, atuando no crescimento, diferenciação, ciclo mitótico e transformação oncogênica (FLOSBACH; OBERLE; SCHERER; ZECHA *et al.*, 2020). A proteína também recebe o nome de proteína de células T tirosina fosfatase (*T cell protein tyrosine phosphatase* - TCPTP) (SEVILLANO; SANCHEZ-ALONSO; PIZARRO-DELGADO; RAMOS-ALVAREZ, 2021). O gene *PTPN2* é expresso em vários tipos celulares, incluindo células β , células epiteliais intestinais e células imunológicas (CHEN; HSIEH; CHU; CHEN *et al.*, 2023). Seu mecanismo de ação pauta-se na remoção de grupos fosfato de proteínas específicas, desempenhando um papel importante na ativação da resposta imunológica (LAFLEUR; NGUYEN; COXE; MILLER *et al.*, 2019).

O gene *PTPN2* está localizado em 18p11.2-p11.3 em humanos (Figura 5) (JOHNSON, CAROL V.; COOL, DEBORAH E.; GLACCUM, MOIRA B.; GREEN, NANCY *et al.*, 1993). Como resultado de *splicing* alternativo da região final 3' do gene, duas isoformas de *PTPN2* são geradas. TC45 composto de 387 aminoácidos traduzidos de dez éxons e TC48 consistindo em 415 aminoácidos traduzidos de nove éxons.

De acordo com a Figura 5, o éxon 9a é identificado em TC45 e TC48, enquanto o éxon 9b está presente apenas em TC48. TC45 é transcrito pelo éxon 9a e éxon 10, enquanto TC48 é transcrito pelo éxon 9a + 9b, mas sem o éxon 10 (LORENZEN; DADABAY; FISCHER, 1995).

FIGURA 5 – LOCALIZAÇÃO DO GENE *PTPN2* NO CROMOSSOMO 18



O gene *PTPN2*, que codifica a proteína tirosina fosfatase não-receptora tipo 2 (*PTPN2*), localizado no braço longo do cromossomo 18 (18q22.3). O polimorfismo rs1893217 está localizado no íntron 7 do gene *PTPN2*, o que significa que está localizado entre os éxons e não é diretamente responsável pela codificação da proteína. O gene *PTPN2* possui três isoformas diferentes da proteína que são resultado de *splicing* alternativo. As duas principais isoformas são TC45 e TC48.5. O terceiro transcrito foi identificado no Ensembl com peso molecular de 41 kDa. O éxon 9a é identificado em TC45 e TC48, enquanto o éxon 9b está presente apenas em TC48. TC45 é transcrito pelo éxon 9a e éxon 10, enquanto TC48 é transcrito pelo éxon 9a + 9b, mas sem éxon 10.

Fonte: Adaptado de Rheinheimer (2014) e Bussi eres-Marmen e colaboradores (2014)

A estrutura da proteína *PTPN2*   composta por vários domínios funcionais, incluindo um domínio N-terminal de ligação a proteínas, um domínio catalítico, um domínio regulatório, um domínio de interação com a subunidade p85 da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) e um domínio C-terminal (WU; WANG; XU; CHEN, 2019).

O domínio catalítico da *PTPN2* cont m o sítio ativo da enzima, onde ocorre a remoção dos grupos fosfato de proteínas específicas. O domínio regulatório atua como um regulador negativo da atividade da enzima, enquanto o domínio de interação com a subunidade p85 da PI3K está envolvido na regulação da sinalização da insulina (JOHNSON, C. V.; COOL, D. E.; GLACCUM, M. B.; GREEN, N. *et al.*, 1993). Nesse contexto, o domínio catalítico cont m o sítio ativo da enzima, onde ocorre a remoção dos grupos fosfato de

proteínas específicas. O domínio regulatório atua como um regulador negativo da atividade da enzima (FLOSBACH; OBERLE; SCHERER; ZECHA *et al.*, 2020).

O gene *PTPN2* foi associado a desordens de cunho autoimune, bem como a respostas inflamatórias e desenvolvimento de tumores (CEROSALETTI; BUCKNER, 2012). São duas as principais descobertas que colocaram o gene em pauta. A primeira, se sustenta em estudos de associação ampla do genoma (*The Wellcome Trust Case Control Consortium*, 2007). De acordo com Flosbach e colaboradores (2020), polimorfismos de nucleotídeo único associados a perda de função, conferem predisposição a doença autoimunes, incluindo o DM1, tal como a doença de Crohn, artrite reumatoide e doença celíaca (FLOSBACH; OBERLE; SCHERER; ZECHA *et al.*, 2020). A segunda, identificou o gene *PTPN2* como um alvo para imunoterapia em tratamentos contra o câncer. O estudo demonstrou que a deleção do *PTPN2* em células tumorais promove a sinalização de IFN- γ e apresentação de antígeno para as células T, bem como a redução do crescimento celular perante as citocinas (LAFLEUR; NGUYEN; COXE; MILLER *et al.*, 2019). Essa descoberta sugere o potencial terapêutico do *PTPN2* na potencialização eficácia da imunoterapia contra o câncer (ARMITAGE; WALLET; MATHEWS, 2021).

Estudos realizados em ratos, demonstram a atividade anti-inflamatória do *PTPN2*, tendo em vista que os organismos deficientes do gene, morreram algumas semanas após o nascimento devido a inflamações recorrentes (SPALINGER; MANZINI; HERING; RIGGS *et al.*, 2018). O polimorfismo rs2542151, por exemplo, foi associado a inflamações intestinais, doença de Crohn e colite ulcerativa (DOUROUDIS; KISAND; NEMVALTS; RAJASALU *et al.*, 2010). Pesquisas em torno desse gene evidenciaram que a perda de variantes funcionais está associada ao aumento do risco de desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas (WU; WANG; XU; CHEN, 2019).

Conforme citado anteriormente, o gene *PTPN2* é expresso em várias células. Quando a proteína *PTPN2* é ativada, ela remove grupos fosfato das proteínas envolvidas na ativação da resposta imunológica, o que leva à supressão da resposta imunológica (WIEDE; LU; DU; LIANG *et al.*, 2020). Isso é particularmente importante em situações em que a resposta imunológica é excessiva, como em doenças autoimunes (SHARP; ABDULRAHIM; NASER; NASER, 2015; SHAW; QASEM; NASER, 2021; SPALINGER; MANZINI;

HERING; RIGGS *et al.*, 2018). Além disso, este gene também pode proteger as células beta da apoptose induzida por IFN- γ (MARROQUI; SANTIN; DOS SANTOS; MARSELLI *et al.*, 2014; MOORE; COLLI; CNOP; ESTEVE *et al.*, 2009; SANTIN; MOORE; COLLI; GURZOV *et al.*, 2011; TEN HOEVE; DE JESUS IBARRA-SANCHEZ; FU; ZHU *et al.*, 2002).

A sua atuação é complexa, envolvendo diversos tipos celulares, proteínas e moléculas, atuando como um modulador negativo da sinalização celular em diversos tipos de células imunológicas, incluindo linfócitos T, células B e células dendríticas (SPALINGER; MANZINI; HERING; RIGGS *et al.*, 2018). A proteína PTPN2 interage com diferentes proteínas e moléculas para modular a sinalização celular. Ela interage com o complexo TCR/CD3 (receptor de células T), regulando a sinalização celular iniciada por este complexo (MACIOLEK; PASTERNAK; WILSON, 2014). Essa interação com o complexo TCR/CD3, ocorre através do seu domínio N-terminal de ligação a proteínas, o que permite que a PTPN2 regule a sinalização celular iniciada por este complexo (LAFLEUR; NGUYEN; COXE; MILLER *et al.*, 2019).

O complexo TCR/CD3 é responsável por reconhecer antígenos apresentados pelas células apresentadoras de antígenos e iniciar a ativação das células T. Quando o complexo TCR/CD3 reconhece o antígeno, ocorre a ativação de uma cascata de sinalização intracelular que leva à ativação da célula T (MACIOLEK; PASTERNAK; WILSON, 2014).

A proteína PTPN2, por sua vez, age como um modulador negativo dessa cascata de sinalização. Ela interage com o complexo TCR/CD3 e remove grupos fosfato de proteínas específicas envolvidas na sinalização intracelular, o que leva à inibição da ativação das células T (FLOSBACH; OBERLE; SCHERER; ZECHA *et al.*, 2020; WIEDE; LU; DU; LIANG *et al.*, 2020). A interação da proteína PTPN2 com o complexo TCR/CD3 é importante para manter o equilíbrio da resposta imunológica, evitando uma resposta excessiva ou inadequada às células T (SHARP; ABDULRAHIM; NASER; NASER, 2015). Além disso, a regulação negativa da sinalização pelo PTPN2 é importante para prevenir doenças autoimunes, nas quais as células T reconhecem e atacam os tecidos próprios do organismo (WIEDE; LU; DU; LIANG *et al.*, 2020).

A PTPN2 também é uma importante proteína reguladora negativa da sinalização de citocinas. As citocinas são proteínas solúveis que atuam como

mensageiros celulares para coordenar e modular a resposta imunológica (LAFLEUR; NGUYEN; COXE; MILLER *et al.*, 2019). Essa interação da proteína PTPN2 com citocinas ocorre através de seu domínio catalítico, que possui atividade fosfatase específica para resíduos de tirosina (SPALINGER; MANZINI; HERING; RIGGS *et al.*, 2018).

Essa proteína pode interagir com várias citocinas, incluindo a interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-10 (IL-10), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) e fator de necrose tumoral (TNF) (SPALINGER; SAYOC-BECERRA; ORDOOKHANIAN; CANALE *et al.*, 2021). Quando uma citocina se liga ao seu receptor na superfície celular, ocorre a ativação de uma cascata de sinalização intracelular que pode levar à expressão de genes específicos e à ativação de células imunes (WU; WANG; XU; CHEN, 2019). A PTPN2, por sua vez, age como um modulador negativo dessa sinalização, removendo grupos fosfato específicos de proteínas envolvidas na cascata (LI; ZHOU; LI; HAN *et al.*, 2019). Por exemplo, a IL-6 ativa a sinalização de JAK/STAT (*Janus kinase/signal transducer and activator of transcription*), levando à expressão de genes pró-inflamatórios (CEROSALETTI; BUCKNER, 2012; SPALINGER; SAYOC-BECERRA; ORDOOKHANIAN; CANALE *et al.*, 2021). A PTPN2 interage com as proteínas JAK e STAT e remove grupos fosfato específicos, inibindo a sinalização e diminuindo a resposta inflamatória (LI; ZHOU; LI; HAN *et al.*, 2019).

A interação da PTPN2 com as citocinas é importante para manter o equilíbrio da resposta imunológica, evitando uma resposta excessiva ou inadequada às citocinas (FLOSBACH; OBERLE; SCHERER; ZECHA *et al.*, 2020). Além disso, a regulação negativa da sinalização pelo PTPN2 é importante para prevenir doenças autoimunes e inflamatórias crônicas, nas quais a sinalização de citocinas é desregulada (SPALINGER; MANZINI; HERING; RIGGS *et al.*, 2018).

Uma vez que o gene PTPN2 codifica uma proteína que atua diretamente na resposta imune, sugere-se que alterações nesse gene possam contribuir para a patogênese do DM1 (Figura 8) (RHEINHEIMER; OLIVEIRA FDOS; CANANI; CRISPIM, 2014).

A presente pesquisa é pautada na análise da influência do polimorfismo rs1893217, do gene *PTPN2*, no DM1 de início na infância e na idade adulta. O

polimorfismo rs1893217, é uma variação genética do tipo SNP, que está localizado no íntron 7 do gene *PTPN2*, que é uma região não codificante do DNA e, portanto, não diretamente relacionada à sequência de aminoácidos da proteína (NIECHCIAL; BUTTER; MANZ; OBIALO *et al.*, 2020) (Figura 5).

O SNP rs1893217 foi associado à diminuição da expressão de *PTPN2* em células T CD4⁺ e linhagem de células B transformadas (LONG; CEROSALETI; WAN; HO *et al.*, 2011). Acredita-se que o polimorfismo rs1893217 pode afetar a regulação da expressão gênica e a atividade da proteína PTPN2, possivelmente influenciando a resposta imune e a inflamação (DENOTH; JUILLERAT; KREMER; ROGLER *et al.*, 2021). Vários estudos têm investigado a associação entre o polimorfismo rs1893217 e diferentes doenças, incluindo doença inflamatória intestinal (DII) (ARMITAGE; WALLET; MATHEWS, 2021), DM1 (TODD; WALKER; COOPER; SMYTH *et al.*, 2007) e artrite (SHAW; QASEM; NASER, 2021).

Um estudo investigou a associação entre o polimorfismo rs1893217 e a doença inflamatória intestinal (DII). Os resultados mostraram que a presença do alelo T do polimorfismo rs1893217 estava associada a um maior risco de desenvolver DII em pacientes com colite ulcerativa e Doença de Crohn. Além disso, o estudo também sugeriu que essa associação pode estar relacionada a uma diminuição na expressão da proteína *PTPN2* (ARMITAGE; WALLET; MATHEWS, 2021).

Outra pesquisa, investigou a associação entre o polimorfismo rs1893217 e a artrite reumatoide (SHAW; QASEM; NASER, 2021). Os resultados mostraram que a presença do alelo T do polimorfismo rs1893217 estava associada a uma maior gravidade da artrite reumatoide em pacientes do sexo feminino. Além disso, o estudo também sugeriu que essa associação pode estar relacionada a uma diminuição na expressão de *PTPN2* (SHAW; QASEM; NASER, 2021). Nesse contexto, avalia-se a hipótese de que o polimorfismo rs1893217 possa estar associado a predisposição ao DM1.

2.3.2 *Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22 (PTPN22)*

O gene *PTPN22* (MIM ID *600716) está localizado no cromossomo 1, na posição 1p13.3-13.1 (COHEN; DADI; SHAOUL; SHARFE *et al.*, 1999), próximo

ao telômero (Figura 6). Esse gene, que compreende 21 éxons (WANG; DONG; HAN; HO *et al.*, 2010), e codifica uma proteína de 807 aminoácidos chamada de tirosina fosfatase linfóide (*lymphoid tyrosine phosphatase* - LYP), pertencente do grupo de proteínas tirosina fosfatases clássicas não receptores de classe I. Essas proteínas são ricas em prolina, ácido glutâmico, serina. O *PTPN22* é reconhecido como o terceiro importante local genético que contribui para o risco de desenvolvimento do DM1 (HASEGAWA; MARTIN; HUANG; TUMAS *et al.*, 2004; TAVARES; SANTOS; MOURA; ARAUJO *et al.*, 2015).

O gene *PTPN22* expressa várias formas de *splicing*. No entanto, pouco se sabe sobre a função e regulação destas. Ao menos duas são traduzidos em proteínas (COHEN; DADI; SHAOUL; SHARFE *et al.*, 1999), sendo elas LYP1 e LYP2 (Figura 6).

A LYP 1, com 807 aminoácidos em sua cadeia polipeptídica (SMYTH; COOPER; HOWSON; WALKER *et al.*, 2008) e peso molecular de 110 kDa, é a isoforma expressa de forma mais abundante (GIZA; GOULAS; GBANDI; EFFRAIMIDOU *et al.*, 2013). Em relação a sua estrutura, a proteína LYP1 possui um domínio catalítico PTP N-terminal, uma região central com função desconhecida e uma porção C-terminal (aproximadamente 200 aminoácidos) contendo quatro motivos ricos em prolina denominados P1 a P4, essenciais para a interação dessa proteína. A isoforma LYP2 tem uma região C-terminal mais curta, resultando na ausência dos motivos P2, P3 e P4 (VANG; MILETIC; ARIMURA; TAUTZ *et al.*, 2008). É expressa em maior proporção em neutrófilos segmentados, células *natural killer* e células T CD8⁺, enquanto células T CD4⁺ e monócitos tem baixos níveis de expressão dessa proteína (DOUROUDIS; KISAND; NEMVALTS; RAJASALU *et al.*, 2010). Sendo assim, a proteína codificada pelo gene *PTPN22* tem expressão restrita a células hematopoiéticas.

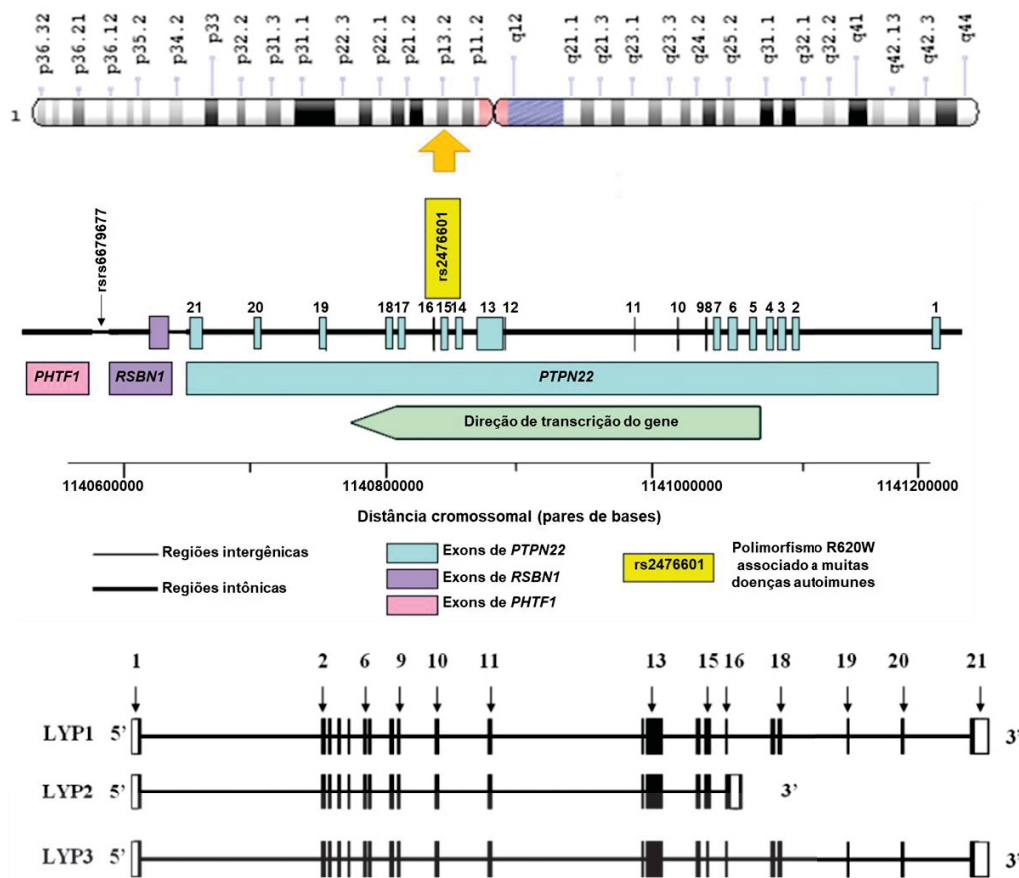
A proteína LYP interage com diversas moléculas intracelulares, de modo especial, com proteína regulatória negativa Csk (*Cterminal Src kinase*), durante a ativação de linfócitos T (CEROSALETI; BUCKNER, 2012). Em condições homeostáticas, a LYP associa-se por meio do motivo P1, o mais rico em prolina, com o domínio SH3 (*Src Homology 3*) da tirosina quinase C-terminal (CSK), regulando negativamente a sinalização de antígenos das células (SHARP; ABDULRAHIM; NASER; NASER, 2015).

Em outras palavras, a proteína atua reprimindo respostas dependentes de células T, ao associar-se com o domínio SH3 da CSK (SMYTH; COOPER; HOWSON; WALKER *et al.*, 2008). Para compreender a função da proteína LYP, se faz necessário entender como ocorre a transdução de sinais que ativam os linfócitos T.

As APCs, por meio de seu MHC, apresentam os antígenos específicos, que são reconhecidos pelo TCR (*T cell receptor*; receptor de célula T) dos linfócitos T. Esse processo induz a ativação dos linfócitos T *naïve*, através de uma sequência de eventos de transdução de sinais, com subsequente fosforilação de quinases reguladoras positivas (VAN BELLE; COPPIETERS; VON HERRATH, 2011). Perante a estimulação do TCR, a LcK (proteína tirosina quinase) provoca fosforilação de ITAM's (motivos de ativação baseados em tirosina imunorreceptores). Logo após o reconhecimento do antígeno pelo receptor TCR dos linfócitos T, o complexo Lyp-CSK se dissocia, para que assim ocorra a ativação dos linfócitos (Figura 7) (GIANCIECCHI; PALOMBI; FIERABRACCI, 2013).

FIGURA 6 – LOCALIZAÇÃO DO GENE *PTPN22* NO CROMOSSOMO 1 E DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA ESTRUTURA GENÉTICA DE TRÊS ISOFORMAS DE LYP

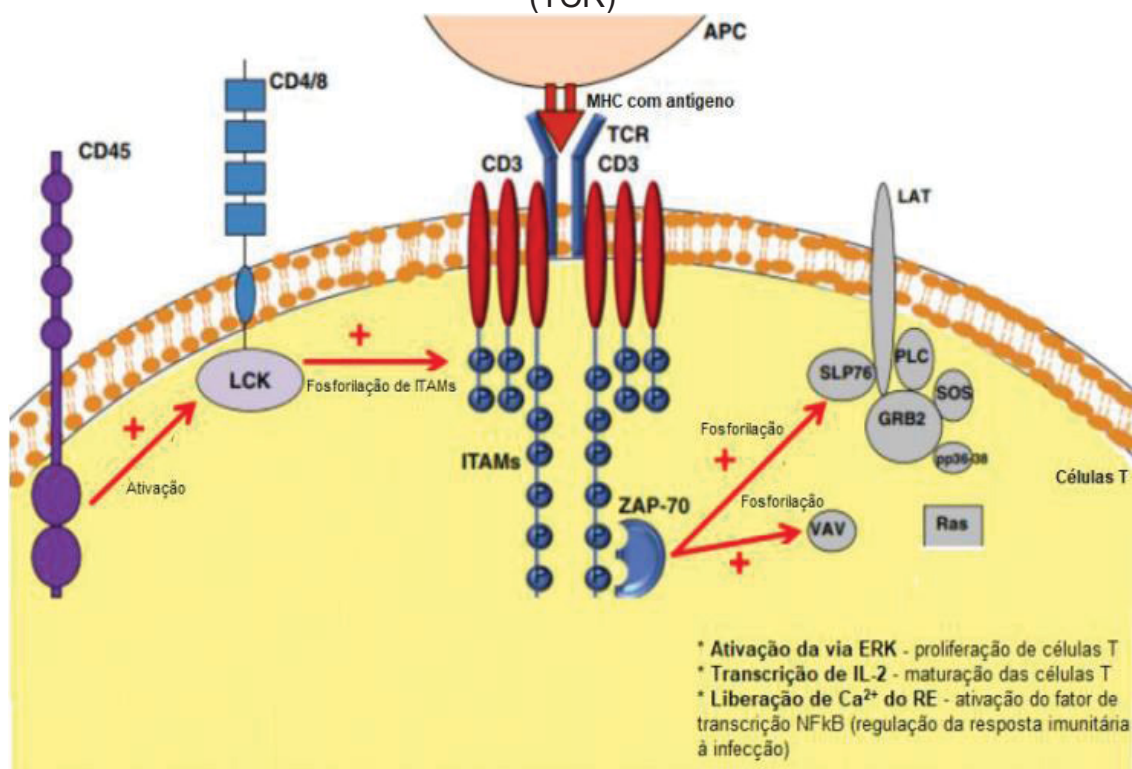
***PTPN22* cromossomo 1p13.2**



Os exons são representados por barras verticais e desenhados aproximadamente proporcionais aos seus tamanhos e posições. A parte aberta das barras representa regiões não translacionais. Os números de exons são rotulados seletivamente com base na sequência de codificação LYP1. O polimorfismo rs6679677 está localizado na região intergênica entre os genes *RSBN1* e *PHTF1* mas está em forte desequilíbrio de ligação com o polimorfismo rs2476601 do gene *PTPN22*, localizado no braço curto do cromossomo 1 (1p13.2). Observe que LYP3 tem um éxon 15 mais curto e LYP2 contém um éxon 16 mais longo com um códon de parada enquadrado.

Fonte: Adaptado de Smith e colaboradores (2008) e Wand e colaboradores (2010)

FIGURA 7 – EVENTOS DE TRANSDUÇÃO DE SINAIS APÓS RECONHECIMENTO DE ANTÍGENOS PELO RECEPTOR DE CÉLULAS T (TCR)



O processo de apresentação de antígenos, por meio do MHC, para o TCR das células T, induz a ativação desses linfócitos. Uma proteína transmembrana expressa na superfície de células hematopoiéticas (com exceção de eritrócitos), CD45, inicia a ativação da Lck (proteína tirosina quinase) através da desfosforilação de resíduos de tirosina. Como consequência, ocorre a fosforilação de ITAMs (motivos de ativação baseados em tirosina imunorreceptores), gerando sítios de ligação de alta afinidade para ZAP-70 (proteína de 70 kDa associada à cadeia zeta). Perante isso, a proteína ZAP-70 fosforila os intermediários LAT (conexão para ativação de células T), SLP76 (fosfoproteína de 76 kDa específica de leucócito), Vav (guanine nucleotide exchange factor) e GRB2 (proteína 2 de ligação ao receptor de fator do crescimento). Dentre os efeitos finais, ocorre a ativação da via ERK (quinase reguladora por sinal extracelular), que culmina em diversos eventos: na ativação de fatores de transcrição, bem como na proliferação de células T, na indução da transcrição de IL-2 e a liberação do Ca²⁺ contido no retículo endoplasmático que desencadeia a ativação do fator de transcrição NF-κB. Uma vez que o TCR foi estimulado, o complexo Lyp-CSK é dissociado.

Fonte: Adaptado de Gianhecchi e colaboradores (2013).

Sendo assim, a proteína LYP interage com CSK, formando um complexo que se ancora na membrana celular. Esse complexo inativa o LCK, que regula positivamente a sinalização de TCR após o reconhecimento do antígeno processado e apresentado através do MHC (SMYTH; COOPER; HOWSON; WALKER *et al.*, 2008). Nesse contexto, a proteína LYP desempenha uma função inibitória perante a expansão clonal e diferenciação de células T. Logo, atua como reguladora negativa da sinalização por TCR (GJORLOFF-WINGREN; SAXENA; WILLIAMS; HAMMI *et al.*, 1999).

A proteína LYP, por meio da desfosforilação e inativação de quinases associadas TCR, inibe a ativação das células T, desempenhando um papel de suma importância na autoimunidade, conferindo prevenção a proliferação de linfócitos auto reativos (BOTTINI; MUSUMECI; ALONSO; RAHMOUNI *et al.*, 2004; PREZIOSO; COMEGNA; DI GIULIO; FRANCHINI *et al.*, 2017; WANG; MORENO; CABALLERO; COLE, 2006).

Nesse contexto, é possível levantar a hipótese de que, alterações ou perda de função a proteína LYP, pode afetar os linfócitos regulatórios (T reg) na supressão das reações autoimunes (GIZA; GOULAS; GBANDI; EFFRAIMIDOU *et al.*, 2013; SHARP; ABDULRAHIM; NASER; NASER, 2015).

A presente pesquisa é pautada em um SNP bastante particular. O polimorfismo rs6679677 é uma variante genética, localizada próxima ao gene PTPN22, que tem sido associada a várias doenças autoimunes, incluindo DM1 (HINKS; COBB; MARION; PRAHALAD *et al.*, 2013) e hipotireoidismo (ERIKSSON; TUNG; KIEFER; HINDS *et al.*, 2012).

Este polimorfismo está localizado próximo ao PTPN22, entre *RSBN1* e *PHTF1* (Figura 6), mas em forte desequilíbrio de ligação (LD) com PTPN22-R620W (rs2476601), que representa o sinal de associação não-HLA mais forte em todo o genoma (HINKS; COBB; MARION; PRAHALAD *et al.*, 2013). O alelo A do polimorfismo rs6679677 foi associada a uma redução na expressão da proteína PTPN22 em células T, o que pode levar a uma maior ativação dessas células (KISAND; UIBO, 2012; LAISK; LEPAMETS; KOEL; ABNER *et al.*, 2021).

2.3.3 O papel dos PTPs na função das células β e das células imunológicas associadas ao DM1

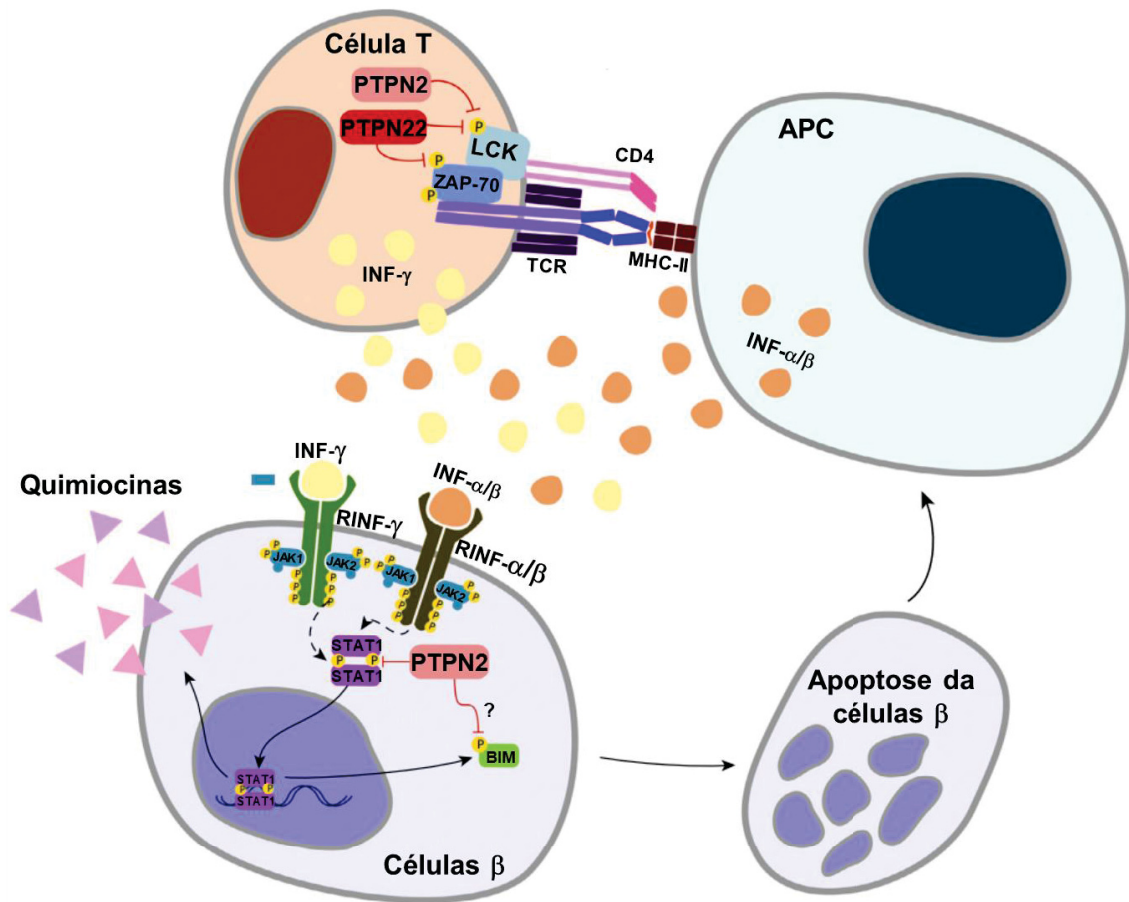
Um papel para a função das PTPs nas células imunes e células β foi implicado no desenvolvimento do DM1. Nos estágios iniciais da doença, células T e células apresentadoras de antígenos (*Antigen-Presenting Cells* - APCs) infiltram-se no pâncreas e secretam citocinas pró-inflamatórias, como interferons (*interferons* - IFNs), que contribuem para disfunção e apoptose das células β (Figura 8) (EIZIRIK; COLLI; ORTIS, 2009; THOMAS; GRAHAM; ANGSTETRA; MCKENZIE *et al.*, 2009). Sinal transdução via receptores de IFN na superfície

das células β ativa as tirosinas quinases JAK1 e JAK2, que fosforilam o fator de transcrição STAT1. STAT1 fosforilado dimeriza e transloca para o núcleo onde ativa a transcrição de quimiocinas e moléculas pró-apoptóticas (Figura 8).

Existem extensas evidências de que esta via transcricional modula a disfunção e morte imuno mediada das células β . Primeiro, a deficiência de STAT1 em camundongos NOD previne inflamação das ilhotas e desenvolvimento da hiperglicemia (KIM; KIM; CHUNG; OH *et al.*, 2007). Em segundo lugar, a interrupção da sinalização por STAT1 protege as células β contra destruição imuno mediada induzida por múltiplas baixas doses de estreptozotocina (GYSEMANS; LADRIERE; CALLEWAERT; RASSCHAERT *et al.*, 2005). Finalmente, a superexpressão do inibidor de STAT, o supressor da sinalização de citocinas-1 (*Suppressor Of Cytokine Signaling-1* - SOCS-1) em células β desfosforila e inibe a ação de STAT1 e asinalização de IFN, protegendo camundongos NOD da insulite e diabetes (CHONG; CHEN; DARWICHE; DUDEK *et al.*, 2004).

Sendo assim, a ativação excessiva da sinalização através de JAK/STAT em células β durante o processo inflamatório contribui para a morte da própria célula β . Inativação de PTPN2, um gene de suscetibilidade para DM1 (observado acima), nas células β resulta em aumento da fosforilação de STAT1 e sensibilização à apoptose induzida por IFN- α , IFN- β e IFN- γ (BARTHSON; GERMANO; MOORE; MAIDA *et al.*, 2011; MOORE; COLLI; CNOP; ESTEVE *et al.*, 2009; SANTIN; MOORE; COLLI; GURZOV *et al.*, 2011).

FIGURA 8 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA VIA REGULATÓRIA SUGERIDA CONTROLADO POR PTPN2 E PTPN22 EM CÉLULAS β E CÉLULAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO.



Os genes candidatos, *PTPN2* e *PTPN22*, codificam PTPs implicadas no desenvolvimento de DM1. Representação esquemática da via regulatória sugerida controlado por PTPN2 e PTPN22 nas células β e células do sistema imunológico. A ligação do IFN ao seu receptor nas células β induz a fosforilação (P) da STAT1 mediada por JAK e sua subsequente migração para o núcleo onde estimula a transcrição de quimiocinas e da proteína pró-apoptótica BIM. A ativação desta via aumenta a suscetibilidade das células β à morte imunomediada, e permite que as células β contribuam para a sua própria morte, tornando-as mais facilmente reconhecidas pelas células do sistema imunológico. Nas células do sistema imunológico, PTPN2 e PTPN22 regulam a ativação do TCR. Mutações nas PTPs aumentam o potencial citotóxico das células T, além de aumentarem sua ativação e proliferação, exacerbando assim o diabetes autoimune. Abreviaturas: BIM, mediador de morte celular que interage com BCL2, também conhecido como BCL2L11 - BCL2-like 11 (facilitador de apoptose); CD4, cluster de diferenciação 4; IFN, interferon; JAK, janus quinase; LCK, proteína tirosina quinase específica de linfócitos; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; PTP, proteína tirosina fosfatase; PTPN, PTP não receptor; STAT, transdutor de sinal e ativador de transcrição; TCR, receptor de células T, DM1, *Diabetes mellitus* tipo 1; TYK2, tirosina quinase 2.

Fonte: Gurzov e colaboradores (2015)

Silenciamento da molécula pró-apoptótica BIM previne a morte das células β induzida pelo *knockdown* de PTPN2 e tratamento com IFN (Figura 8) (SANTIN; MOORE; COLLI; GURZOV *et al.*, 2011). Curiosamente, inativação de *BACH2*, outro gene de suscetibilidade ao DM1 (BARRETT; CLAYTON;

CONCANNON; AKOLKAR *et al.*, 2009), resulta em regulação negativa de PTPN2, ativação de BIM, e subsequente apoptose das células β , após exposição a citocinas inflamatórias (MARROQUI; SANTIN; DOS SANTOS; MARSELLI *et al.*, 2014). Estas observações combinadas indicam que PTPN2 desempenha um papel importante na sobrevivência das células β através da regulação da ativação de STAT1/BIM induzida por IFN e apoptose causada pela inflamação das ilhotas.

As PTPs também afetam a função das células T autorreativas, que participam da destruição das células β (EIZIRIK; COLLI; ORTIS, 2009). Por exemplo, células T deficientes em PTPN2 exibem ativação aprimorada e proliferação do receptor de células T (TCR) pela falta da regulação negativa através da via sinalização por desfosforilação da proteína tirosina quinase específicas de linfócitos (*Lymphocyte-specific protein tyrosine Kinase* - LCK) (Figura 8) (WIEDE; SHIELDS; CHEW; KYPARISSOUDIS *et al.*, 2011). Além disso, células T CD8⁺ sem PTPN2 e com autoantígenos de células β escapam da tolerância e adquirem atividade de células T citotóxicas, resultando na destruição das células β em modelo de rato com diabetes autoimune (WIEDE; SHIELDS; CHEW; KYPARISSOUDIS *et al.*, 2011).

Variações alélicas no gene que codifica a tirosina fosfatase linfóide PTPN22 também demonstra forte associação com doenças autoimunes, destacando seu papel crucial em células derivadas de linfóides (FOUSTERI; LIOSSIS; BATTAGLIA, 2013). Em particular, o polimorfismo *missense* C1858T em *PTPN22* leva a uma substituição de R620W e está associado a um aumento de risco para o DM1 (ONENGUT-GUMUSCU; BUCKNER; CONCANNON, 2006; QU; TESSIER; HUDSON; POLYCHRONAKOS, 2005; SMYTH; COOPER; COLLINS; HEWARD *et al.*, 2004; WELLCOME TRUST CASE CONTROL, 2007; ZHENG; SHE, 2005; ZOLEDZIEWSKA; PERRA; ORRU; MOI *et al.*, 2008). Da mesma forma que o PTPN2, o PTPN22 regula negativamente a sinalização do TCR desfosforilando a LCK e a proteína quinase associada à cadeia ζ da proteína da superfície das células T 70 (*T cell surface protein Z-chain-Associated Protein kinase 70* - ZAP-70) (Figura 8) (CLOUTIER; VEILLETTE, 1999). No entanto, a função de PTPN22 e o efeito da mutação R620W durante o desenvolvimento do DM1 ainda não é bem compreendido.

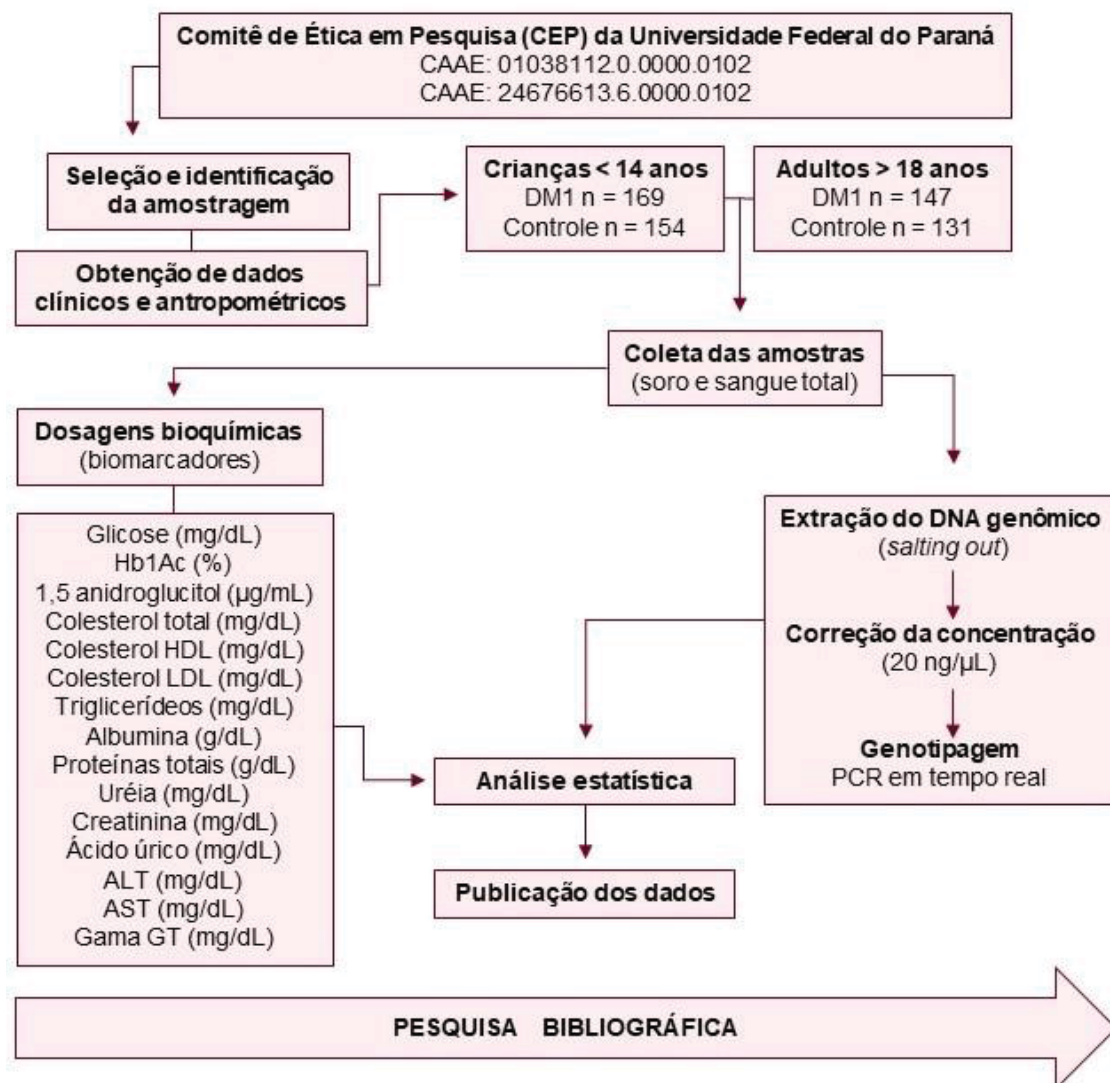
Por um lado, foi demonstrado que a superexpressão de PTPN22 atenua os efeitos deletérios da sinalização do TCR em ratos NOD (YEH; MIAW; LIN; CHOU *et al.*, 2013). Por outro lado, o silenciamento *PTPN22* confere proteção contra autoimunidade em camundongos NOD (ZHENG; KISSLER, 2013).

Em adição a isso, estudos *in vitro* e *in vivo* de desenvolvimento e de função das células T mostram que a mutação R620W confere perda de função (VAN SCHRAVENDIJK; KIEKENS; PIPELEERS, 1992; ZIKHERMAN; HERMISTON; STEINER; HASEGAWA *et al.*, 2009), ganho de função (CAO; YANG; COLBY; HOGAN *et al.*, 2012; HABIB; FUNK; RIECK; BRAHMANDAM *et al.*, 2012) ou função anormal (DAI; JAMES; HABIB; SINGH *et al.*, 2013) na sinalização do TCR. Assim, o efeito desta mutação permanece obscuro tanto em humanos como em modelos de DM1 em camundongos. Mais estudos são necessários para a compreensão do papel do PTPN22 na regulação das células T autorreativas, e como esta mutação associada ao diabetes afeta a patogênese da doença.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto de pesquisa obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências da Saúde/SCS, sob os registros CAAE: 01038112.0.0000.0102 e CAAE: 24676613.6.0000.0102. A autorização refere-se à utilização das amostras de pacientes com DM1. A Figura 9 abaixo apresenta o fluxograma contendo a logística de obtenção, seleção e processamento das amostras.

FIGURA 9 – FLUXOGRAMA PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA CIENTÍFICA



O fluxograma apresenta as etapas de obtenção de autorização para realização do projeto, bem como a logística da definição dos grupos estudados, coleta de amostras clínicas e dados antropométricos. Demonstração esquemática do processamento das amostras obtidas, análises bioquímicas e estatísticas. A pesquisa bibliográfica foi realizada durante todas as etapas.

Fonte: O autor (2023).

3.1 AMOSTRAGEM

Foram coletadas amostras (n = 601) de soro e sangue total de 323 crianças com idade igual ou inferior a 14 anos, sendo 154 diabéticos tipo 1 (DM1, n = 154) e 169 crianças sem diabetes (controle, n = 169). Ainda, foram coletadas amostras de soro e sangue total de 278 adultos com idade igual ou superior a 18 anos, cujos 131 (DM, n = 131) exemplares de pacientes com diagnóstico de *Diabetes mellitus* tipo 1, e 147 amostras sem diabetes (controle, n = 147). A caracterização dos pacientes com DM1 foi baseada nos critérios preconizados pelas entidades internacionais Associação Americana de Diabetes (*American Diabetes Association – ADA*) (ADA, 2020; HOLT, R. I. G. et al., 2021) e pela Sociedade Internacional de Diabetes Pediátrica e Adolescentes (*International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes – ISPAD*) (DIMEGLIO; ACERINI; CODNER; CRAIG et al., 2018).

A obtenção das amostras de crianças se deu por meio da coleta no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da UFPR, no ato dos exames de rotina de pacientes com o diagnóstico de DM1. As amostras de adultos com DM1 foram obtidas através da Unidade de Diabetes do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da UFPR (SEMPR).

Os grupos controles são compostos de pessoas saudáveis. Para tanto, obteve-se as amostras de crianças em escolas municipais de cidades da região metropolitana de Curitiba. Enquanto as amostras de adultos, foram obtidas no banco de sangue do Complexo Hospital de Clínicas da UFPR (CHC).

Todas as amostras foram coletadas mediante assinatura prévia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos voluntários, quando adultos, ou por pais ou responsáveis, para os menores de 18 anos.

Os dados clínicos e antropométricos que compõe a pesquisa, foram coletados durante uma entrevista estruturada com os indivíduos diabéticos e do grupo controle, bem como através de prontuários médicos.

3.1.2 Processamento de amostras

As coletas de sangue total foram realizadas em tubos contendo EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*; ácido etilenodiamino tetra-acético) como

agente anticoagulante (BD Vacutainer® K₂EDTA; Becton, Dickinson, Co.), enquanto o soro foi coletado em tubo com gel separador (Gel BD Vacutainer® SSTTM; Becton Dickinson, Co.).

As amostras de sangue total foram homogeneizadas durante 15 minutos, e em seguida, uma alíquota de 1,0mL foi retirada para determinação da hemoglobina glicada. Em seguida, as amostras, com o volume restante, submetidas a centrifugação, a 3.500rpm durante 20 minutos para obtenção do *buffy coat* (papa leucocitária; camada de leucócitos sobrenadante), utilizado posteriormente para extração do DNA genômico.

As amostras coletadas em tubo com gel separador foram submetidas a centrifugação, a 3.500rpm durante 20 minutos, para completa separação do soro e hemácias. A partir disso, as amostras foram fracionadas, em microtubos tipo *Eppendorf* de 0,5μL previamente identificado, em alíquotas de 100μL, 200μL e 300μL. Foram adotados critérios de exclusão para: amostras hemolisadas, lipêmicas e/ou ictéricas.

As alíquotas encaixadas nesses critérios, foram excluídas dos ensaios. Todas as alíquotas, de sangue total e soro, foram armazenadas em freezer -20°C e -80°C para posterior dosagem dos parâmetros bioquímicos. Essas amostras contemplam o Biorrepositório do Laboratório de Bioquímica Clínica da UFPR, homologado pela Portaria Nº 2.201, de 14 de setembro de 2011.

3.2 DOSAGEM DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os biomarcadores de controle glicêmico, perfil lipídico e nutricional, função renal e hepática foram quantificados nas amostras de soro, de crianças e adultos dos grupos controle e com DM1, em sistema automatizado Architect Ci8200 (Abbott Diagnóstica Laboratórios do Brasil) ou sistema automatizado Labmax 400 (Labtest AS). Foram utilizados os calibradores e controles necessários antes das análises. Os analitos, princípios metodológicos empregados, coeficientes de variação e intervalos de referência, para crianças e adultos constam nas Tabela 1 e 2.

**TABELA 1 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS AVALIADOS NO GRUPO
CONTROLE E DE CRIANÇAS COM DM1**

Biomarcador	Metodologia	Cva (%)	Intervalo de referência
1,5 anidroglicitol	Enzimático colorimétrico Glycomark	3,4	>10 Pg/mL
Albumina	Colorimétrico (Verde de Bromocresol)	1,6	2,9 – 4,7 g/dL
Colesterol total	Enzimático Colorimétrico (Reação de Trinder)	2,7	Desejável <170 mg/dL Limítrofe 170 – 199 mg/dL Elevado >200 mg/dL
Creatinina	Colorimétrico (Picrato alcalino)	2,7	0,26 – 0,81 mg/dL
Glicose	Hexoquinase UV	2,2	<100 mg/dL
HDL-colesterol	Enzimático Colorimétrico (Acelerador - Detergente Seletivo)	3,6	Desejável 35 – 40 mg/dL
Hemoglobina glicada	Imunoensaio (padronizado DCCT)	1,7	4,0 – 6,0%
LDL-Colesterol*	Cálculo pela equação de Friedewald**	4,2	Desejável <110 mg/dL Limítrofe 110 – 129 mg/dL Elevado 130 mg/dL
Proteínas totais	Reação de Biureto	2,4	6,0 – 8,0 g/dL
Triglicerídeos	Enzimático Colorimétrico (Reação de Trinder)	3,4	Desejável <100 mg/dL Elevado >130 mg/dL
Uréia	Ensaio cinético UV com urease, GLDH e NADH	1,6	11 – 38 mg/dL

Cva, coeficiente de variação analítica interensaio, em porcentagem, para soro controle com concentração “normal”. *Atualização Diretriz Brasileira de dislipidemias e prevenção de aterosclerose, 2017 **Equação de Friedewald, LDL-colesterol = colesterol total – HDL-colesterol – Triglicérides/5.

Fonte: O autor (2023).

**TABELA 2 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS AVALIADOS NO GRUPO
CONTROLE E DE ADULTOS COM DM1**

Biomarcador	Metodologia	Cva (%)	Intervalo de referência
1,5 anidroglicitol	Enzimático colorimétrico Glycomark	3,4	>10 Pg/mL

Ácido úrico	Ensaio cinético UV com L-alanina, cetoglutarato, NADH e piridoxal fosfato	1,6	2,5 – 7,0 mg/dL
Albumina	Colorimétrico (Verde de Bromocresol)	1,9	3,3 – 4,7 g/dL
ALT	Ensaio cinético UV com L-alanina, cetoglutarato, NADH e piridoxal fosfato	1,6	10 – 45 U/L
AST	Ensaio cinético UV com L-aspartato, cetoglutarato, NADH e piridoxal fosfato	2,2	10 – 39 U/L
Colesterol total	Enzimático Colorimétrico (Reação de Trinder)	2	Desejável <190 mg/dL
Creatinina	Colorimétrico (Picrato alcalino)	3,2	0,5 – 1,4 mg/dL
Gama GT	Ensaio cinético com L-γ-glutamil-3-carbox- 4-nitronilida e p-nitroanilina	1,1	Homem: 7 – 58 U/L Mulher: 5 – 39 U/L
Glicose	Hexoquinase UV	1,9	60 – 99 mg/dL
HDL-colesterol	Enzimático Colorimétrico (Acelerador - Detergente Seletivo)	3,5	Desejável > 40
Hemoglobina glicada	Imunoensaio (padronizado DCCT)	1,7	4% – 6%
LDL-Colesterol	Cálculo pela equação de Friedewald**	4,2	<130mg/dL – Baixo risco <100mg/dL – Risco intermediário <70mg/dL – Alto risco
Proteínas totais	Reação de Biureto	2,4	6,0 – 8,0 g/dL
Triglicerídeos	Enzimático Colorimétrico (Reação de Trinder)	1,9	Desejável com jejum <150 mg/dL Desejável sem jejum <175 mg/dL
Uréia	Ensaio cinético UV com urease, GLDH e NADH	1,9	15 – 45 mg/dL

Cva, coeficiente de variação analítica interensaio, em porcentagem, para soro controle com concentração “normal”. *Atualização Diretriz Brasileira de dislipidemias e prevenção de aterosclerose, 2017 **Equação de Friedewald, LDL-colesterol = colesterol total – HDL-colesterol – Triglicérides/5.

Fonte: O autor (2023).

3.3 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA GENÔMICO

O DNA genômico foi extraído do *buffy coat* após a centrifugação do sangue total, através da técnica de *salting out* modificado. O princípio do método consiste na desidratação proteica seguida de precipitação em ambiente satura

com cloreto de sódio (NaCl) (NASIRI; FOROUZANDEH; RASAEI; RAHBARIZADEH, 2005).

Após a extração, o DNA genômico foi quantificado por meio de espectrofotometria em 260 e 280nm (Espectrofotômetro S60, Biochrom). Adotou-se o seguinte critério para avaliação e exclusão de amostras: As amostras que apresentaram grau de pureza inferior a 1,5 ou superior a 2,1, na relação A260/280, bem como os exemplares com concentração menor que 100ng/μL, foram excluídas dos ensaios.

Amostras de DNA com qualidade determinada por espectrofotometria, foram diluídas, com água ultrapura estéril, a 20ng/μL, para posterior genotipagem no sistema de PCR em tempo real, utilizando sondas TaqMan® (*Applied Biosystems*®; *Thermo Fisher*®).

3.4 VARIABILIDADES GENÉTICAS ESTUDADAS

Constam na Tabela 3 abaixo os genes e os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) analisados no presente estudo.

TABELA 3 – CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO TIPO SNP ESTUDADOS

Gene	Designação OMIM	Cromossomo Posição	Localização Região	Polimorfismo SNP	Técnica
<i>PTPN2</i>	176887	18p11.21	Íntron 7	rs1893217	TaqMan®
<i>PTPN22</i>	600716	1p13.2	Intergênica	rs6679677	TaqMan®

rs: dbSNP: reference SNP database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>); OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man® (<http://omim.org/>);
Fonte: Adaptado (NCBI, 2023; OMIM, 2023)

3.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL COM SONDAS FLUORESCENTES TIPO Taqman®

As reações de PCR em tempo real foram realizadas conforme o preconizado pelo fabricante do reagente, (*Applied Biosystems*®) em equipamento 7500 fast (*Applied Biosystems*®), disponível no laboratório de Bioquímica Clínica, no departamento de Farmácia da UFPR. O procedimento analítico foi realizado de acordo com as etapas descritas em seguida.

Em cabine de fluxo laminar, previamente higienizada com álcool 70%, para evitar contaminações, realizou-se a preparação dos ensaios com sondas Taqman® em placas de 96 poços estéreis.

As sondas fluorescentes Taqman® validadas (*Applied Biosystems*®) para os genes em estudo foram: rs1893217 (C__11902155_10) e rs6679677 (C__29537457_10). As sequências de nucleotídeos das sondas supracitadas, estão no *website* da *Applied Biosystems*®, informadas através dos códigos acima.

Para dar seguimento a análise, adicionou-se um microtubo de 0,5 u/L água ultrapura estéril, Mastermix, sonda e DNA genômico, nas quantidades descritas no Quadro 5.

QUADRO 5 – VOLUMES ESTABELECIDOS DE REAGENTES PARA A REAÇÃO DE PCR EM TEMPO REAL

Reagentes	Volumes para reação de 8µL
Sonda TaqMan®	0,1µL
Mastermix	3,0µL
Água ultrapura estéril	1,9µL
DNA em concentração 20ng/µL	3,0µL

Sonda TaqMan® SNP Genotyping Assays – Life Technologies, contendo um par de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), marcados com fluoróforos distintos (VIC e FAM). Master Mix: reagente comercial contendo DNA polimerase AmpliTaq Gold® ultrapura, desoxirribonucleotídeos trifosfato (dNTPs), referência passiva ROX e tampão.

Fonte: O autor (2023).

Em seguida, em cada placa, foram adicionados em dois poços controles negativos (NTC, *no template control*), contendo somente mix de reação e água ultrapura estéril, sem adição de DNA. No restante da placa de reação, foram ensaiadas as amostras controle e de DM1. O Quadro 6 apresenta as condições de ciclos térmicos utilizadas para o ensaio de PCR em tempo real.

QUADRO 6 – CONDIÇÕES ESTABELECIDAS DE TEMPO E TEMPERATURA PARA A REAÇÃO DE PCR EM TEMPO REAL

Ciclos térmicos
1 ciclo pré-PCR 60°C por 60 segundos
1 ciclo 95°C por 10 minuto
50 ciclos: 95°C por 15 segundos

60°C por 90 segundos
1 ciclo pós-PCR 60°C por 60 segundos

Ciclos térmicos empregados na realização da técnica de PCR em tempo real, em equipamento 7500 fast (Applied Biosystems).

Fonte: O autor (2023).

Cada placa de 96 poços preparada, foi submetida a genotipagem no equipamento supracitado. Cada placa permaneceu em análise durante 136 minutos. Dado o tempo de processamento, os genótipos fornecidos pelo equipamento foram anotados e organizados em uma planilha (Microsoft® Excel®), para posterior análise estatística dos dados.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi determinada através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Logo, as variáveis com distribuição normal foram comparadas por meio do teste “t”, de Student (bidirecional), e os valores obtidos foram representados em média e desvio padrão ($\pm 1SD$).

Já para as variáveis sem distribuição normal, ou seja, não paramétricas, as comparações se deram por meio do teste “U”, de Mann-Whitney, e os valores foram expressos em mediana e intervalo interquartil (25%-75%).

Variáveis descontínuas e categóricas foram analisadas por meio de testes de Chi-quadrado (χ^2) ou através do teste Exato de Fischer bidirecional, de acordo com o mais apropriado para cada parâmetro.

O estudo de associação das variáveis genéticas com os parâmetros bioquímicos, foi realizado pelo método de Análise de Variância (ANOVA). Para essa análise, utilizou-se cada polimorfismo estudado como variável classificadora. As análises de correlação se sucederam com a codificação dos genótipos, sendo: 1 (homozigoto de maior frequência), 2 (heterozigoto) e 3 (homozigoto de menor frequência).

Por meio do programa DeFinetti (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>), verificou-se o equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, calculou-se das frequências genóticas e alélicas, bem como o intervalo de confiança de 95% (IC, 95%) para os alelos de menor frequência (*minor frequency allele*; MAF).

Para as comparações de frequências alélicas com outras populações, analisadas para os genes do presente estudo, considerou-se similar quando dentro do limite de 95% do intervalo de confiança, e distinto quando acima ou abaixo do intervalo definido.

O valor de P (P, probabilidade), inferior a 0,05 ($P < 0,05$) foi considerada significativa em todas as análises matemáticas realizadas.

Todos os dados estatísticos, bem como a presença de outliers, foram analisados por meio do programa Statistica para Windows® 10.0 (StatSoft Inc, Tulsa OK, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E ANTROPOMÉTRICA DA AMOSTRAGEM

4.1.1 Dados antropométricos avaliados nos grupos infanto-juvenil

A Tabela 4 apresenta os dados antropométricos para os grupos de crianças avaliados no presente estudo.

TABELA 4 – DADOS ANTROPOMÉTRICOS PARA OS GRUPOS COMPOSTOS POR CRIANÇAS

Parâmetros	Controle (n = 169)	DM1 (n = 154)	P
Idade (anos)	10 (10 – 11)	11 (9 – 13)	<0,001*
Meninos/Meninas	91/78	74/80	0,298
Peso (kg)	38,3 (33,3 – 45,2)	38,1 (30 – 50,2)	0,806
Altura (m)	1,43 (1,38 – 1,5)	1,45 (1,34 – 1,56)	0,560
IMC (kg/m2)	18,2 (16,7 – 20,5)	17,9 (16,5 – 20,9)	0,727
Z-Score	0,58 ± 1,06	0,23 ± 1,00	0,011*
Idade de diagnóstico (anos)	-	7,0 (4 – 9)	-
Tempo de diabetes (anos)	-	4,0 (1,9 – 7,8)	-
Cetoacidose (%)			
No diagnóstico	-	70,8	-
No último ano	-	27,9	-

Os resultados são apresentados como média±1-SD ou mediana (intervalo interquartil, 25% - 75%). IMC, índice de massa corporal. P, probabilidade teste t-Student bidirecional. P*, probabilidade, teste U de Mann-Whitney. **teste do Chi-quadrado; -, sem informação disponível.
Fonte: O autor (2023).

4.1.1.1 Idade, sexo tempo de diabetes e idade de diagnósticos

A mediana de idade do grupo controle (10 anos) foi menor (<0,001) do que o obtido no grupo de crianças com DM1 (11 anos). O grupo foi pareado por gênero (P = 0,298) (Tabela 4).

Sobre a idade de diagnóstico, a foi de 7 anos de idade, que vai de encontro com o já descrito em literatura, que indicam o pico de início do DM1 entre 5 e 7 anos (STANESCU; LORD; LIPMAN, 2012).

Ainda, de acordo com Wolkers e colaboradores, 2017, o DM1 é mais comum em crianças e adolescentes, sendo conhecido como infanto-juvenil. O

tempo de diabetes das crianças é de 4 anos, variando de 1,9 a 7,8 anos (intervalo interquartil) (Tabela 4)

4.1.1.2 Peso, altura, IMC e Z-score

De acordo com a análise estatística dos dados computados, não houve diferença significativa entre peso, altura e IMC (índice de massa corporal) entre os indivíduos que compõe o grupo controle e as crianças com diagnóstico de DM1.

O IMC é frequentemente utilizado em avaliações nutricionais, levando em consideração o peso e altura do avaliado ($\text{peso}/\text{altura}^2$). Já o *z-score* é um indicador antropométrico que avalia o crescimento dos indivíduos a partir da altura, peso e idade, fornecendo uma medida de crescimento em comparação a uma referência (DIBLEY; STAEHLING; NIEBURG; TROWBRIDGE, 1987).

Sendo assim, *z-score* é o parâmetro utilizado na infância para avaliar o desenvolvimento nutricional, tendo em vista a importância da idade para avaliação do amadurecimento singular de cada criança (WANG; MORENO; CABALLERO; COLE, 2006).

O grupo DM1 apresentou uma redução do *z-score* em comparação ao grupo controle ($P = 0,011$) (Tabela 4). Pacientes com DM1 costumam apresentar sintomas agudos dessa condição, como a perda de peso e a desidratação resultante da poliúria (USHER-SMITH; THOMPSON; ZHU; SHARP *et al.*, 2015) (ADA, 2022). Apesar de o DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*) não ter evidências suficientes para demonstrar a influência do controle metabólico no desenvolvimento de crianças e adolescentes com DM1, alguns autores já levantaram essa hipótese anteriormente (USHER-SMITH; THOMPSON; ZHU; SHARP *et al.*, 2015).

4.1.1.3 Cetoacidose diabética (CAD)

Mais de 70% das crianças com DM1 foram diagnosticadas em quadro de cetoacidose diabética (CAD) (Tabela 4). A CAD pode ser desencadeada devido ao atraso ao acesso a serviços de saúde, como o início da insulinização (GARCIA-DE JESUS, 2008).

Dados epidemiológicos demonstram que a frequência de CAD gira em torno de 13% a 80% (CLAPIN; EARNEST; COLMAN; DAVIS *et al.*, 2022; EVANS, 2019). Um estudo realizado com pacientes assistido pelo ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, demonstrou que dos 274 pacientes analisados, 161 (58,8%) foram diagnosticados com DM1 durante um episódio de CAD (FAYFMAN; PASQUEL; UMPIERREZ, 2017; LEJLIC; HOLMAAS; LOVAS; UELAND, 2023). Outro estudo apontou que 67% das crianças paulistas foram diagnosticadas em cetoacidose diabética (FORESTELL; BATTAGLIA; SHARIF; ELTORKI *et al.*, 2023; GARCIA-DE JESUS, 2008).

Segundo o exposto por Damiani e Damiani, 2008, em 25% dos casos, a CAD é a primeira manifestação do DM. Essa implicação, aliada ao quadro de diabetes não diagnosticado, pode promover deterioração metabólica progressiva. Essa é uma complicação particularmente frequente no DM1, em que 5 a 10% dos casos tem como desfecho o óbito (FORESTELL; BATTAGLIA; SHARIF; ELTORKI *et al.*, 2023). Logo, a CAD é uma das principais causas de morbimortalidade em crianças (IDF, 2013).

A descompensação em CAD pode ser o primeiro sinal da manifestação da doença, devendo ser tratada em unidade de terapia intensiva (UTI) (NYENWE; KITABCHI, 2016). O manejo clínico da CAD é uma emergência para a pediatria, tendo em vista as outras complicações provocadas pela cetoacidose diabética, como edema cerebral, acidente vascular cerebral isquêmico, parada cardiorrespiratória, arritmia cardíaca, disfunção miocárdica e *Diabetes insipidus* devido a trombose do seio e infarto cerebral (EVANS, 2019). Outro dado levantado foi que 27,9% das crianças avaliadas desenvolveram a complicação no último ano, quando já tinham o diagnóstico de DM1 (Tabela 4).

A ocorrência de cetoacidose diabética em pacientes que já estão em tratamento ocorre devido controle glicêmico ineficiente, em razão ao uso inadequado da terapia com insulina (GARCIA-DE JESUS, 2008; LEJLIC; HOLMAAS; LOVAS; UELAND, 2023; TAUSCHMANN; HERMANN; FREIBERG; PAPSCH *et al.*, 2020).

Muitos estudos demonstram altas taxas de CAD no momento do diagnóstico de DM1, bem como a presente pesquisa. Nesse contexto, elucidar-se a necessidade de investigar novos marcadores de rastreamento e o

desenvolvimento e políticas públicas de saúde para conscientização sobre a detecção precoce do DM1.

4.1.2 Dados antropométricos avaliados nos grupos contendo adultos

Os dados antropométricos avaliados nos grupos controle e DM1 constam na Tabela 5 abaixo.

TABELA 5 – DADOS ANTROPOMÉTRICOS PARA OS GRUPOS COMPOSTOS POR ADULTOS

Parâmetros	Controle (n = 147)	DM1 (n = 131)	P
Idade (anos)	44 (40 – 49)	45 (34 – 52)	0,953
Homens/Mulheres	51/96	42/89	0,642
Peso (kg)	74,0 (64,0 – 83,0)	69,0 (61,0 – 80,0)	0,025*
Altura (m)	1,65 (1,60 – 1,71)	1,63 (1,59 – 1,70)	0,027*
IMC (kg/m ²)	26,7 (23,5 – 29,8)	25,4 (22,8 – 29,5)	0,129
Idade de diagnóstico (anos)	-	26,0 (21,0 – 34,0)	-
Tempo de diabetes (anos)	-	14,0 (6,0 – 23,0)	-
Etnia (%)			
Euro-Brasileiros	-	82,4	-
Afro-Brasileiros	-	17,6	-
Tabagismo (%)			
Não fumante	-	49,6	-
Ex-fumante	-	35,1	-
Fumante	-	15,3	-
HAS (%)	-	50,5	-
DAC (%)	-	0,3	-

Os resultados são apresentados como média±1-SD ou mediana (intervalo interquartil, 25% - 75%). P, probabilidade teste t-Student bidirecional. P*, probabilidade, teste U de Mann-Whitney. *teste do Chi-quadrado; -, sem informação disponível.
Fonte: O autor (2023).

4.1.2.1 Sexo, idade, idade de diagnóstico e tempo de diabetes

Os grupos de adultos, portadores de diabetes, foram pareados por idade ($P = 0,953$) e gênero ($P = 0,642$) (Tabela 5).

O diagnóstico dos indivíduos avaliados ocorreu entre 18 e 37 anos, e a mediana obtida foi de 26 anos. Em grande parte das populações, o pico de incidência do DM1 ocorre ainda na infância. Todavia, mais da metade dos pacientes com DM1 são diagnosticados na idade adulta (VAN BELLE; COPPIETERS; VON HERRATH, 2011). O grupo DM1 adulto convive com a doença por mais tempo (14 anos) (Tabela 5) que o grupo das crianças (4 anos) (Tabela 4).

4.1.2.2 Peso, altura e ICM

O grupo DM1 apresentou menor IMC que o grupo controle ($P = 0,129$) (Tabela 5). Esse dado vai em oposição ao relatado em literatura, que demonstram que efeito da insulinoterapia, hormônios ou também do aumento na ingestão calórica evitando os quadros de hipoglicemia (URAKAMI, 2023). Outros estudos também demonstram que o tratamento crônico de pessoas com DM1 aumenta o risco de sobrepeso (LI; HUANG; GAO, 2017; URAKAMI, 2023). Isto pode ser reflexo no mal controle glicêmico observado pelos valores de HbA1c (Tabela 7).

4.1.2.3 Etnia

Os indivíduos que compõe o grupo de adultos com DM1 foi composto por 82,4% de euro-brasileiros, e 17,6% de afro-brasileiros (Tabela 5). Esse dado vai de encontro com o obtido pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) para a população de Curitiba e região metropolitana, em que 74,9% das pessoas se declarou branca (CENSO, 2016).

Os dados de etnia não estavam disponíveis para o grupo controle, no entanto, esses indivíduos pertencem à mesma região demográfica.

4.1.2.4 Tabagismo

No Brasil, apesar da real prevalência de tabagismo entre pessoas com diabetes seja desconhecida, o SDB, 2018, supõe que seja em torno de 10%. Esse dado vai de encontro com o obtido na presente pesquisa, em que 15,3% dos pacientes com DM1 declaram-se fumantes (Tabela 5). A frequência obtida para ex-fumantes, no presente estudo, foi de 35,1%, enquanto a taxa de pessoas que não fumantes, foi de 49,6%. As informações sobre o uso de tabaco no grupo controle não estavam disponíveis.

Sabe-se que o tabagismo está associado maiores riscos de mortalidade e desenvolvimento complicações cardiovasculares entre pessoas com diabetes (IVANDIC; CIGROVSKI BERKOVIC; ORMANAC; SABO *et al.*, 2023; JARVISALO; PUTTO-LAURILA; JARTTI; LEHTIMAKI *et al.*, 2002). Todavia, a relação entre o tabagismo e o diabetes não está completamente delineada, mas existem hipóteses que podem esclarecer a situação. Substâncias presentes no cigarro, como a nicotina, levam a produção de radicais livres, interferem na homeostase bem como na estrutura do endotélio vascular. O tabaco também tem caráter pró-inflamatório, aumentando a inflamação e o estresse oxidativo (MARITIM; SANDERS; WATKINS, 2003).

4.1.2.5 Histórico de hipertensão e doença arterial coronariana

De acordo com os dados levantados, 50,5% dos pacientes com DM1 avaliados, apresentam hipertensão arterial sistêmica (HAS) (Tabela 5). Estudos apontam que a prevalência de hipertensão, em pessoas com DM1, gira em torno de 11% e 59% (YAMAZAKI; HITOMI; NISHIYAMA, 2018). Sendo assim, os dados estão condizentes com o obtido na presente pesquisa.

A HAS constitui um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares, e está associada ao DM1 e ao DM2. De acordo com o SDB (2018) a frequência de HAS em pacientes com diabetes é 2,4 vezes maior do que em pessoas sem o distúrbio metabólico (PEREIRA; ACURCIO FDE; GUERRA JUNIOR; SILVA *et al.*, 2012).

Existem poucos dados na literatura sobre HAS em adultos jovens. Um estudo transversal de base populacional conduzido em Pelotas (RS), demonstrou prevalência de HAS de 2,3% e 9% nas faixas etárias de 20 a 29

anos e 30 a 39 anos, respectivamente (PICCINI, R.X.; VICTORA, C.G., 1994; COBAS *et al.*, 2008).

A necessidade do diagnóstico precoce de DM, bem como o rastreamento rápido e efetivo da HAS nesses pacientes, torna-se mais clara com a possibilidade de progressão para outras condições, como a nefropatia diabética. Existem evidências de que os efeitos da HAS indicam maior vulnerabilidade renal (YAMAZAKI; HITOMI; NISHIYAMA, 2018).

A redução significativa da pressão arterial pode ser a intervenção isolada mais importante em retardar a progressão da nefropatia em pessoas com DM (BIDANI; GRIFFIN, 2004).

Nesse contexto, as complicações crônicas, principalmente as relacionadas ao acometimento cardiovascular decorrente da hipertensão arterial sistêmica, são de suma importância (YAMAZAKI; HITOMI; NISHIYAMA, 2018), tendo em vista que ela é responsável pelo desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares.

4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As Tabelas 6 e 7 apresentam os parâmetros bioquímicos avaliados para os grupos compostos da população infanto-juvenil e de adultos, respectivamente.

Os ensaios realizados para quantificação dos parâmetros bioquímicos, foram descritos anteriormente no item 3.2 da seção Materiais e Métodos (Quadro 5).

TABELA 6 – CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DOS BIOMARCADORES ANALISADOS PARA OS GRUPOS INFANTO-JUVENIL

Parâmetros	Controle (n = 169)	DM1 (n = 154)	P
Controle glicêmico			
Glicose (mg/dL)	92 (85 – 98)	246 (166 – 329)	<0,001*
Hb1Ac (%)	5,2 (5,1 – 5,4)	9,7 (8,7 – 11,1)	<0,001*
1,5 anidroglicitol (µg/mL)	30,6 (25,7 – 38,3)	3,1 (1,9 – 4,8)	<0,001*
Perfil lipídico			

Colesterol total (mg/dL)	149 (129 – 170)	172 (147 – 196)	<0,001*
Colesterol HDL (mg/dL)	50 (42 – 58)	55 (46 – 62)	<0,001*
Colesterol LDL (mg/dL)	76,8 (62,2 – 96,4)	98 (83 – 118)	<0,001*
Triglicerídeos (mg/dL)	93 (67 – 128)	67 (54 – 89)	<0,001*
Perfil nutricional			
Albumina (g/dL)	4,18 (4,03 – 4,56)	4,3 (4,1 – 4,4)	0,817
Proteínas totais (g/dL)	7,28 (6,82 – 7,77)	7,3 (6,9 – 7,7)	0,984
Perfil renal			
Ureia (mg/dL)	22 (18 – 26)	27 (22 – 31)	<0,001*
Creatinina (mg/dL)	0,21 (0,39 – 0,65)	0,7 (0,6 – 0,8)	<0,001*
Ácido úrico (mg/dL)	3,48 (2,97 – 4,08)	2,98 (2,5 – 3,7)	<0,001*

Os resultados são apresentados como mediana (intervalo interquartil 25%-75%). P, probabilidade teste t-Student bidirecional. P*, probabilidade, teste U de Mann-Whitney.
Fonte: O autor (2023).

TABELA 7 – CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DOS BIOMARCADORES ANALISADOS PARA OS GRUPOS COMPOSTOS POR ADULTOS

Parâmetros	Controle (n = 147)	DM1 (n = 131)	P
Controle glicêmico			
Glicose (mg/dL)	96 (84 – 106)	187 (113 – 251)	<0,001*
Hb1Ac (%)	5,4 (5,2 – 5,6)	8,65 (7,7 – 9,6)	<0,001*
1,5 anidroglicitol (µg/mL)	23,9 (20,5 – 29)	4,1 (2,3 – 6)	<0,001*
Perfil lipídico			
Colesterol total (mg/dL)	175,0 (158 – 195)	171 (151 – 198)	0,208
Colesterol HDL (mg/dL)	54 (45 – 63)	50 (41 – 63)	0,209
Colesterol LDL (mg/dL)	93,2 (80,8 – 111,8)	99,5 (77,8 – 119)	0,245
Triglicerídeos (mg/dL)	135,0 (88 – 172)	89 (69 – 137)	<0,001*
Perfil nutricional			
Albumina (g/dL)	3,50 (3,80 – 3,98)	4,14 (3,84 – 4,35)	<0,001*
Proteínas totais (g/dL)	6,87 (6,61 – 7,22)	8,19 (7,41 – 8,74)	<0,001*
Perfil renal			
Ureia (mg/dL)	23 (20 – 27)	32 (24 – 40)	<0,001*
Creatinina (mg/dL)	0,56 (0,47 – 0,67)	0,89 (0,80 – 1,00)	<0,001*

Ácido úrico (mg/dL)	4,6 (3,7 – 5,5)	3,72 (2,86 – 4,83)	<0,001*
Perfil hepático			
ALT (mg/dL)	15 (11 – 19)	17 (9 – 22)	0,429
AST (mg/dL)	21 (17 – 25)	16 (12 – 21)	<0,001*
Gama-GT (mg/dL)	27 (20 – 41)	24 (16 – 39)	0,073

Os resultados são apresentados como mediana (intervalo interquartil 25%-75%). P, probabilidade teste t-Student bidirecional. P*, probabilidade, teste U de Mann-Whitney.
Fonte: O autor (2023).

4.2.1 Biomarcadores de controle glicêmico

A glicemia do grupo controle infanto-juvenil (92mg/dL) e adulto (96mg/dL), mesmo não tendo sido obtido em jejum, encontra-se dentro dos intervalos de referência (60-99mg/dL), confirmando a ausência de pré-diabetes (<100mg/dL) ou diabetes (<126mg/dL) (Tabelas 6 e 7).

Os grupos DM1 de início na infância e na fase adulta apresentam mal controle glicêmico conforme os critérios estabelecidos pela ADA e SBD (ADA, 2022; SBD, 2018) para crianças (glicemia em jejum <180mg/dL, HbA1c <7% e 1,5AG <10µg/dL) e adultos (glicemia em jejum <180mg/dL, HbA1c <7,5% e 1,5AG <10µg/dL) (Tabelas 6 e 7).

De acordo com o DCCT, crianças e adolescentes tendem a ter maiores concentrações de HbA1c em comparação com adultos, dado que corrobora os obtidos na presente pesquisa (crianças: 9,7% vs adultos: 8,6%) (*Implications of the Diabetes Control and Complications Trial, American Diabetes Association, 1993*).

Outro parâmetro dosado para esclarecimento do controle glicêmico pós-prandial e de curto prazo, o 1,5 anidroglicitol (1,5AG), uma vez que fornece informação sobre o controle glicêmico nas 24 a 72 horas anteriores ao ensaio (LIANG; SHI; FENG; CHEN *et al.*, 2021; MIGALA; CHALUBINSKA-FENDLER; ZIELINSKA, 2022). Sendo assim, o 1,5AG revela informações de excursões glicêmicas, contribuindo para o controle da condição em conjunto com os demais marcadores.

A concentração mais baixa de 1,5AG no grupo de crianças (3,1µg/mL) em relação ao adulto (4,1µg/mL) com DM1 sugere maiores picos, ou excursões

glicêmicas mais frequentes e contínuas nas crianças. O pior controle da glicêmico na população infanto-juvenil está de acordo com as dificuldades observadas em alcançar as metas terapêuticas nesta faixa etária (TOSUR; PHILIPSON, 2022).

4.2.2 Biomarcadores de perfil lipídico

Estudos de base populacional estimam que 14–45% das crianças com DM1 têm dois ou mais fatores de risco de doença cardiovascular aterosclerótica (MARGEIRSDOTTIR; LARSEN; BRUNBORG; OVERBY *et al.*, 2008; RODRIGUEZ; FUJIMOTO; MAYER-DAVIS; IMPERATORE *et al.*, 2006; SCHWAB; DOERFER; HECKER; GRULICH-HENN *et al.*, 2006), e a prevalência de fatores de risco de doença cardiovascular aumenta com a idade (SCHWAB; DOERFER; HECKER; GRULICH-HENN *et al.*, 2006) e entre as minorias raciais/étnicas (REDONDO; LIBMAN; CHENG; KOLLMAN *et al.*, 2018), sendo que as meninas apresentam uma carga de risco mais elevada do que os rapazes (MARGEIRSDOTTIR; LARSEN; BRUNBORG; OVERBY *et al.*, 2008).

Estudos recentes descobriram que as taxas de hospitalização por insuficiência cardíaca (ajustadas para idade e sexo) foram duas vezes maiores em pessoas com diabetes em comparação com aquelas sem diabetes (CAVENDER; STEG; SMITH; EAGLE *et al.*, 2015; MCALLISTER; READ; KERSSSENS; LIVINGSTONE *et al.*, 2018). O diabetes predispõe ao desenvolvimento de arteriosclerose acelerada. A avaliação lipídica desses pacientes contribui para a avaliação de risco e identifica uma proporção importante daqueles com dislipidemia.

Em adultos com diabetes, é razoável obter um perfil lipídico (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL e triglicerídeos) no momento do diagnóstico, na avaliação médica inicial e, posteriormente, pelo menos a cada 5 anos em pacientes com idade inferior 40 anos. Em pessoas mais jovens com doença de longa duração (como aquelas com diabetes tipo 1 de início na juventude), perfis lipídicos mais frequentes podem ser razoáveis. Um painel lipídico também deve ser obtido imediatamente antes do início da terapia com estatinas (ADA, 2023).

Em crianças a triagem inicial deve ser feita logo após o diagnóstico e se a triagem inicial for normal, a triagem subsequente poderá ser realizada aos 9–11 anos de idade, que é um período estável para avaliação lipídica em crianças (MCALLISTER; READ; KERSSSENS; LIVINGSTONE *et al.*, 2018; REDONDO; LIBMAN; CHENG; KOLLMAN *et al.*, 2018; SCHWAB; DOERFER; HECKER; GRULICH-HENN *et al.*, 2006). Embora o grupo DM1 de início na infância apresente concentrações superiores de colesterol (total e LDL-C), em relação ao do grupo controle ($P < 0,001$), a concentração mediana do LDL-C é inferior a 100mg/dL (Tabela 6). Sendo assim, recomenda-se que estas crianças continuem monitorando o perfil lipídico após os 11 anos de idade a cada três anos (ADA, 2023).

O grupo DM1 apresenta maiores concentrações de HDL-C e menores de triglicerídeos que o grupo controle ($P < 0,001$). Este perfil já foi repostado na literatura (GUY; OGDEN; WADWA; HAMMAN *et al.*, 2009; KRISHNAN; COPELAND; BRIGHT; GARDNER *et al.*, 2011; SNELL-BERGEON; WEST; MAYER-DAVIS; LIESE *et al.*, 2010), mas não se acredita que este aparente melhor perfil lipídico este associado a menor risco (ALBERS; MARCOVINA; IMPERATORE; SNIVELY *et al.*, 2008; COLHOUN; OTVOS; RUBENS; TASKINEN *et al.*, 2002; KORNERUP; NORDESTGAARD; FELDT-RASMUSSEN; BORCH-JOHNSEN *et al.*, 2003; ORCHARD; VIRELLA; FORREST; EVANS *et al.*, 1999).

Em relação aos dados obtidos para os grupos compostos por adultos, observa-se que o perfil lipídico apresenta comportamento semelhante ($P > 0,05$). Como no grupo infanto-juvenil, nota-se que o grupo DM1 apresenta menores concentrações de triglicerídeos ($P = < 0,001$) em relação ao grupo controle. Estudos realizados anteriormente, também apresentaram resultados semelhantes, demonstrando que o pacientes com DM1 apresentam melhor perfil lipídico (GUY; OGDEN; WADWA; HAMMAN *et al.*, 2009; KRISHNAN; COPELAND; BRIGHT; GARDNER *et al.*, 2011). Da mesma forma, a recomendação para pessoas com diabetes entre 40 e 75 anos de idade com maior risco cardiovascular, incluindo aquelas com um ou mais fatores de risco de doença cardiovascular aterosclerótica, recomenda-se o uso de terapia com estatinas de alta intensidade para reduzir o colesterol LDL em $< 50\%$ do valor basal e atingir uma meta de colesterol LDL de $< 70\text{mg/dL}$. Assim como,

intensificar a terapia de estilo de vida e otimizar o controle glicêmico para pacientes com concentração de triglicerídeos superiores a 150mg/dL e/ou HDL-C <40mg/dL para homens e <50mg/dL para mulheres (ADA, 2023). Como observado na Tabela 4, a mediana destes parâmetros no grupo DM1 estão dentro dos recomendados.

Existem estudos que mencionam que os lipídios de pacientes com DM talvez sejam mais aterogênicos. Uma possível explicação seria a diferença de tamanho das partículas de lipoproteínas, o processo de oxidação do colesterol LDL e o exacerbado transporte de LDL na circulação de pacientes com DM (LEE; KIM; LEE; CHANG, 2022). Ainda, mesmo que a classificação de aterogênicos não faça jus aos pacientes avaliados no presente estudo, sabe-se que indivíduos com DM1 tem maiores riscos de desenvolver complicações micro e macrovasculares (HUANG; REFAAT; MOHAMMEDI; JAYYOUSI *et al.*, 2017).

4.2.3 Biomarcadores de perfil nutricional

Não houve diferença significativa nas concentrações séricas de albumina ($P = 0,817$) e proteínas totais ($P = 0,984$) no grupo infanto-juvenil (Tabela 3). Embora, no grupo adulto, os pacientes com DM1 apresentaram concentrações superiores de proteínas totais e albumina em relação ao grupo controle (Tabela 4), encontram-se ainda dentro dos intervalos de referência. Isso indica que não há sinais de deficiência nutricional, particularmente de perda proteica, na população avaliada (LEE; KIM; SEO, 2022).

A albumina desempenha função essencial para manutenção do volume plasmático, bem como o transporte de substância hidrofóbicas e drogas (WAGNER; HRADEC; MANDLIKOVA, 1969). A albumina atua no equilíbrio osmótico do organismo. Aliado a isso, a proteinúria persistente é um indicador de lesão renal. O *Diabetes mellitus* representa um fator de risco para o desenvolvimento de complicações renais. A nefropatia diabética, afeta de 10 a 40% dos pacientes com DM, constituindo a principal causa de insuficiência renal, dependente de hemodiálise e transplante (MATIJEVIC; TALAPKO; MESTROVIC; MATIJEVIC *et al.*, 2023).

4.2.4 Biomarcadores de função renal

Como foi mencionado anteriormente, a questão renal é particularmente importante nos pacientes com DM1. A creatinina dosada como parâmetro de avaliação da filtração glomerular, bem como para o diagnóstico e monitoramento de doenças renais (HUISMAN; SPRAAKMAN; KOOMEN; TALSMA *et al.*, 2023). Aliada a creatinina, a dosagem da ureia é de grande valia para avaliar danos renais, constituindo os parâmetros mais utilizados como marcadores de comprometimento renal crônico (KHAN; SCHERZER; LEWIS; MALHOTRA *et al.*, 2023).

O grupo DM1 de início na infância e na fase adulta apresentaram contrações superiores de creatinina e ureia em relação aos seus respectivos grupos controle ($P = <0,001$), contudo ainda dos intervalos preconizados para as respectivas faixas de idade (ANDRADE; CHELLINI; JULIANA; CORRÊA, 2017; CERIOTTI; BOYD; KLEIN; HENNY *et al.*, 2008).

O ácido úrico foi o outro parâmetro avaliado no perfil renal, substância essa que provém da digestão de proteínas. Esse biomarcador reflete a supersaturação urinária, cristalização e obstrução da luz tubular, o que favorece a inflamação local (KHAN; KAUSER; PALAKEEL; ALI *et al.*, 2022; LI; CHEN; HU; TAN *et al.*, 2023). De acordo com dados da literatura, concentrações elevadas de ácido úrico sugerem um fator de risco para doença renal na população geral e em pessoas com diabetes (BELLOMO, 2013).

Para as duas populações avaliadas, a diferença das dosagens foi significativa ($P = <0,001$). Os pacientes com DM1 apresentaram menores valores de ácido úrico, o que vai de encontro com o demonstrado anteriormente em literatura. Relatos em outros estudos apresentam concordância com nossos resultados, onde o ácido úrico no soro de indivíduos com DM1 é menor, devido ao aumentado da depuração de urato associado à glicosúria por mecanismo que ainda não foi elucidado (ESPARZA MARTIN; GARCIA NIETO, 2011; SHICHIRI; IWAMOTO; SHIIGAI, 1987).

Apesar da diferença observada, os valores estão dentro dos valores de referência preconizados para crianças e adultos para os três biomarcadores, sugerindo que os pacientes em estudo não apresentam alterações relevantes da função renal.

4.2.5 Biomarcadores de função hepática

Sabe-se que o DM representa um fator de risco para o desenvolvimento de complicações hepáticas, tais como a gordura no fígado. Sendo assim, existe uma relação bidirecional entre DM e doenças hepáticas (DE LACERDA VALVERDE; UTSUNOMIYA; DOS SANTOS CARVALHO; FRANCO-BELUSSI *et al.*, 2022). O fígado desempenha uma função de suma importância na homeostase da glicose. Sendo assim, existe correlação entre o diabetes e complicações hepáticas (MATIJEVIC; TALAPKO; MESTROVIC; MATIJEVIC *et al.*, 2023). Nesse contexto, realizou-se avaliação de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e de gama glutamil transferase (γ -GT) para os grupos compostos por adultos. A informação do perfil hepático não foi obtida para as crianças.

As aminotransferases são marcadores hepatocelulares, enquanto a γ -GT representa a função do trato biliar. Enquanto ALT está disponível apenas no fígado, AST e γ -GT são encontradas em outros órgãos, sendo, portanto, marcadores com menor especificidade (VOZAROVA; STEFAN; LINDSAY; SAREMI *et al.*, 2002).

Apenas o biomarcador de AST apresentou diferença significativa entre os grupos avaliados ($P = <0,001$), sendo que o grupo DM1 refletiu menores taxas desse marcador. Por outro lado, os valores de ALT e γ -GT obtidos foram similares entre os grupos controle e DM1 ($P >0,05$). Todavia, todos os biomarcadores, para ambos os grupos, encontram-se dentro dos intervalos de referência preconizados para a faixa etária.

4.3 ANÁLISES MOLECULARES

As frequências alélicas e genotípicas encontram-se dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) para ambos os polimorfismos rs1893217 e rs6679677, dos genes *PTPN2* e *PTN22*, respectivamente.

O equilíbrio de HWE baseia-se na ideia de que, em uma grande população de reprodução aleatória, as frequências genotípicas devem cumprir as

proporções de HWE, que são: a) as frequências alélicas permanecerão constantes, nas diferentes gerações, independente do alelo ser menos frequente ou comum; b) desvios dessas proporções podem ocorrer por mutações, seleção de genótipos para transmissão à prole, fluxo gênico entre populações, adaptação e consanguinidade (NAMIPASHAKI; RAZAGHI-MOGHADAM; ANSARI-POUR, 2015).

4.3.1 Polimorfismo rs1893217 (A>G) do gene *PTPN2*

As frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo rs1893217, em comparação com os grupos controle, para as populações infanto-juvenil e de fase adulta constam nas Tabelas 5 e 6 abaixo.

TABELA 5 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS PARA O POLIMORFISMO rs1893217 NO GRUPO INFANTO-JUVENIL

Gene/Polimorfismo	Genótipos/Alelos	Controle (n = 169)	DM1 (n = 154)	P
<i>PTPN2</i> rs1893217	AA	129 (76,3%)	107 (69,5%)	0,337
	AG	37 (21,9%)	42 (27,3%)	
	GG	3 (1,8%)	5 (3,2%)	
MAF	G-allele [95% IC]	12,7% [9-16%]	16,9% [13-21%]	0,136
H-W	-	0,854	0,726	-
Dominante	A/A vs A/G + G/G	129/40	107/47	0,166
Recessivo	G/G vs A/A + A/G	3/166	5/149	0,395

Valores dos genótipos são n (%); 95% IC: Intervalo de confiança de 95%; P, probabilidade, teste de χ^2 . H-W, Equilíbrio de Hardy-Weinberg (teste de χ^2).

Fonte: O autor (2023).

TABELA 6 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS PARA O POLIMORFISMO rs1893217 NO GRUPO COMPOSTO POR ADULTOS

Gene/polimorfismo	Genótipos/Alelos	Controle (n = 147)	DM1 (n = 131)	P
<i>PTPN2</i>	AA	111 (75,5%)	97 (74,1%)	0,708
rs1893217	AG	32 (21,8%)	32 (24,4%)	

	GG	4 (2,7%)	2 (1,5%)	
MAF	G-allele [95% IC]	13,6% [10-18%]	13,7% [10-18%]	0,963
H-W	-	0,369	0,727	-
Dominante	A/A vs A/G + G/G	111/36	97/34	0,779
Recessivo	G/G vs A/A + A/G	4/143	2/129	0,494

Valores dos genótipos são n (%); 95% IC: Intervalo de confiança de 95%; P, probabilidade, teste de χ^2 . H-W, Equilíbrio de Hardy-Weinberg (teste de χ^2).

Fonte: O autor (2023).

As frequências genotípicas (crianças: $P = 0,337$; adultos: $P = 0,708$) e alélicas (crianças: $P = 0,136$; adultos: $P = 0,963$) do polimorfismo rs1893217 entre os grupos DM1 de início na infância (Tabela 5) e na fase adulta (Tabela 6) foi similar aos seus respectivos controles, indicando que este polimorfismo não rs1893217 está associado ao DM1 na população estudada.

As frequências dessa variante genética também não divergiram estatisticamente, entre pacientes com e sem DM1, em diferentes modelos de herança genética, sendo esses: recessivo (A/A vs. A/G + G/G) e dominante (G/G vs. A/A + A/G).

Este resultado está de acordo com outro estudo conduzido também em população sul brasileira e na chinesa. Rheinheimer e colaboradores (2014) encontraram a frequência do alelo G em 14,5% no grupo DM1 e 12,2% no grupo controle ($P = 0,152$), frequências estas que se encontram dentro do intervalo de confiança para este alelo em todos os grupos estudados (Tabelas 5 e 6).

Contudo, na população Chinesa foi encontrado associação do polimorfismo rs1893217 com o DM1 (CHEN, 2019). Neste estudo, indivíduos diabéticos, portadores de GG tiveram maior frequência do anticorpo ZnT8 (anticorpo antitransportador de zinco 8) quando comparados com portadores do alelo AA (IC 95%, $P = 0,026$) (CHEN, 2019).

Ainda, portadores do alelo A/G apresentam maior frequência do anticorpo IA-2A (IC 95%, $P = 0,038$), mas nenhuma relação foi observada em relação ao anticorpo GADA ($P > 0,05$) (CHEN, 2019). Assim, foi sugerido que o polimorfismo rs1893217 pode conferir modesta autoimunidade para as células beta do pâncreas (STECK; WONG; WAGNER; JOHNSON *et al.*, 2012).

A Tabela 7 abaixo demonstra as frequências alélicas e genotípicas encontradas para o polimorfismo rs1893217 do presente estudo e demais

populações. Nota-se que a distribuição do alelo de menor frequência (G) é nos grupos DM1 e controles são similares as descritas para outra população brasileira (2014) e chinesa (CHEN, 2019). Ainda, a frequência do alelo G nos grupos controle também foi similar a descrita para as populações Canadenses e Suíça.

TABELA 7 – COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DO POLIMORFISMO rs1893217 (A>G) DO GENE *PTPN2* COM DADOS DA LITERATURA

<i>PTPN2</i> – rs1893217			Genótipo (%)			Alelo MAF (%)
Grupo étnico	Característica	N	AA	AG	GG	
Crianças	DM1	154	69,5	27,3	3,2	16,9
Presente estudo	Controle	169	76,3	21,9	1,8	12,8
Adultos	DM1	131	74,1	24,4	1,5	13,7
Presente estudo	Controle	147	75,5	21,8	2,7	13,6
Chineses	DM1	1023	67,8	27,7	4,5	18,3
(CHEN <i>et al.</i> , 2019)	Controle	1247	68,2	29,2	2,6	17,2
Brasileiros	DM1	486	73,5	24	2,5	14,5
(RHEINHEIMER <i>et al.</i> , 2014)	Controle	484	77,9	19,8	2,3	12,2
Canadenses	Doença de Crohn	406	-	-	-	19
(AMRE <i>et al.</i> , 2010)	Controle	415	-	-	-	14
Japoneses	Doença de Crohn	547	-	-	-	19,5
(MARCIL <i>et al.</i> , 2013)	Controle	590	-	-	-	13,6
Suíços	Doença de Crohn	343	-	-	-	19,5
(SCHARL <i>et al.</i> , 2012)	Controle	663	-	-	-	12,3

Abreviações: DM1 (*Diabetes mellitus* tipo 1)

No estudo conduzido por Chen e colaboradores (2019), os autores realizaram uma análise estratificada por idade, a fim de obter resultados em diferentes faixas etárias. Essa análise sugere que o polimorfismo aumenta o risco para DM1 de início antes dos 18 anos de idade ($P = 0,02$), mas não no DM1 diagnosticado depois dos 18 anos ($P = 0,5$), ou seja, (CHEN, 2019). Esses achados sugerem uma heterogeneidade de *loci* de risco genético para o DM1 de início na infância e na fase adulta.

Conforme o supracitado, o gene *PTPN2* foi associado anteriormente a outras doenças autoimunes, tal qual a Doença de Crohn, uma inflamação crônica do trato gastrointestinal (TORRES; MEHANDRU; COLOMBEL; PEYRIN-

BIROULET, 2017). De acordo com os dados encontrados em literatura, o polimorfismo rs1893217 foi associado a Doença de Crohn nas populações estudadas. Steck e colaboradores, 2012, conduziram uma pesquisa em torno de 20 genes, com exceção do HLA, para determinar associações com o diabetes. Os autores eles observaram que o polimorfismo rs1893217, do gene PTPN2, previu a autoimunidade das ilhotas, mas não o desenvolvimento de DM1, após acompanhar o histórico familiar (STECK; WONG; WAGNER; JOHNSON *et al.*, 2012).

Interações com genes não HLA também podem influenciar o efeito dos polimorfismos no risco para desenvolvimento do DM1. A predisposição genética para diabetes autoimune é fortemente ligada a genes ligados à região do MHC. Entretanto, *locus* não associados ao MHC, também são candidatos a predisponentes no risco do DM1 (DOUROUDIS; KISAND; NEMVALTS; RAJASALU *et al.*, 2010).

Frederiksen e colaboradores, 2013, descreveram uma possível interação entre o receptor de vitamina D (VDR) e os genes PTPN2, na progressão para DM1 na população infanto-juvenil. Em crianças com o genótipo PTPN2 rs1893217 A/A, o alelo A do VDR rs1544410 foi associado a uma diminuição risco de DM1. Por outro lado, em crianças com o alelo PTPN2 rs1893217 G, o alelo A do VDR rs1544410 não foi associado a condição metabólica (FREDERIKSEN; LIU; ROMANOS; STECK *et al.*, 2013). Essa possível interação tem plausibilidade biológica, haja vista que o VDR se liga a um novo sítio de ligação intrônica no gene *PTPN2* (RAMAGOPALAN; HEGER; BERLANGA; MAUGERI *et al.*, 2010). Sugere-se, portanto, que variações em ambos os genes são necessárias para levar a um efeito no risco de DM1 (RHEINHEIMER; OLIVEIRA FDOS; CANANI; CRISPIM, 2014).

O papel potencialmente importante do PTPN2 na patogênese do DM1 foi descrito anteriormente em literatura. Estudos de associação de genoma relataram uma associação entre polimorfismos de PTPN2 e a condição metabólica (TODD; WALKER; COOPER; SMYTH *et al.*, 2007; WELLCOME TRUST CASE CONTROL, 2007). Entretanto, o presente estudo de caso-controle, não replicou a associação relatada do polimorfismo rs1893217 no gene PTPN2 com o DM1 em euros descendentes.

Em adição a isso, observou-se que não houve associação do polimorfismo rs1893217 com as concentrações dos biomarcadores de controle glicêmico, perfil lipídico, perfil renal, perfil nutricional e perfil hepático nas populações estudadas.

Conforme o discutido, alguns estudos demonstram a importância do polimorfismo rs1893217 no gene PTPN2, e sua associação com diferentes doenças. Mais estudos são necessários para entender os mecanismos subjacentes a essas associações e como elas podem ser utilizadas para melhorar o diagnóstico e o tratamento dessas doenças.

4.3.2 Polimorfismo rs6679677 (C>A) do gene PTPN22

As frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo rs6679677, em comparação com os grupos controle, para as populações infanto-juvenil e de fase adulta constam nas Tabelas 8 e 9 abaixo.

TABELA 8 FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS PARA O POLIMORFISMO rs6679677 NO GRUPO INFANTO-JUVENIL				
Gene/polimorfismo	Genótipos/Alelos	Controle (n = 169)	DM1 (n = 154)	P
PTPN22 rs6679677	CC	123 (72,8%)	100 (64,9%)	0,018
	CA	45 (26,6%)	45 (29,2%)	
	AA	1 (0,6%)	9 (5,9%)	
MAF	A-allele [95% IC]	13,9% [10-18%]	20,5% [16-25%]	0,027
H-W	-	0,145	0,205	-
Dominante	C/C vs C/A + A/A	123/46	100/54	0,699
Recessivo	A/A vs C/A + C/C	1/168	9/145	0,006

Valores dos genótipos são n (%); 95% IC: Intervalo de confiança de 95%; P, probabilidade, teste de χ^2 . Equilíbrio de Hardy-Weinberg (teste de χ^2).
Fonte: O autor (2023).

As frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs6679677 foram superiores no grupo DM1, conferindo risco para o DM1 com início na infância (Tabela 8). O alelo A confere um risco a predisposição 1,59 vezes maior a DM1 (OR = 1,59; IC 95% 1,05-2,41). Em concordância com nossos resultados, o alelo

A também foi significativamente associado ao aumento do risco de DM1 na população estoniana (OR = 1,50; IC 95% = 1,17-1,92; p = 0,001) (DOUROUDIS; KISAND; NEMVALTS; RAJASALU *et al.*, 2010).

TABELA 9 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS PARA O POLIMORFISMO rs6679677 NO GRUPO COMPOSTO POR ADULTOS

Gene/polimorfismo	Genótipos/Alelos	Controle (n = 147)	DM1 (n = 131)	P
PTPN22 rs6679677	CC	117 (79,6%)	100 (90,1%)	0,455
	CA	27 (18,4%)	30 (9,2%)	
	AA	3 (2%)	1 (0,7%)	
MAF	A-allele [95% IC]	11,2% [8-15%]	12,2% [8-16%]	0,717
H-W	-	0,342	0,280	-
Dominante	C/C vs C/A + A/A	117/30	118/13	0,513
Recessivo	A/A vs C/A + C/C	3/144	1/130	0,371

Valores dos genótipos são n (%); 95% IC: Intervalo de confiança de 95%; P, probabilidade, teste de χ^2 . H-W, Equilíbrio de Hardy-Weinberg (teste de χ^2).

Fonte: O autor (2023).

Contudo, o polimorfismo rs6679677 não foi associado ao risco para o DM1 de início na fase adulta, uma vez que não houve diferença estatísticas das frequências genotípicas (P = 0,455) e alélicas (P = 0,717) entre os grupos (Tabela 9). Também corroborando nossos resultados, na população estoniana, o polimorfismo não foi associado ao risco para LADA (KISAND; UIBO, 2012). Os resultados mostraram que o polimorfismo rs6679677 estava significativamente associado com o risco de DM1, mas não com o risco de LADA (KISAND; UIBO, 2012).

Com base nos dados expostos e analisados, sugere-se que o polimorfismo rs6679677 do gene PTPN22 não está associado ao risco ou proteção ao DM1 na idade adulta, mas está associado ao risco na população infanto-juvenil. Os dados obtidos para a população mais jovem vão de encontro com outros estudos realizados. Em um avaliação genômica, o *Welcome Trust Case Control*, reportou o SNP rs6679677 como sendo um fator de risco para o desenvolvimento do *Diabetes mellitus* tipo 1 (WELLCOME TRUST CASE CONTROL, 2007).

Welter e colaboradores (2018) mostraram que crianças portadoras do alelo A do polimorfismo rs2476601 no gene *PTPN22* apresentam 3 vezes mais chances de desenvolver DM1.

Contudo, Campos e colaboradores (2020) não encontram associação deste polimorfismo com o DM1 de início na fase adulta. Estes resultados suportam a informação de que os polimorfismos rs6679677 e rs2476601 estão em forte desequilíbrio de ligação (HINKS; COBB; MARION; PRAHALAD *et al.*, 2013).

Smyth e colaboradores (2008) avaliaram em uma população Britânica os efeitos do rs6679677 no DM1. Os autores realizaram um estudo de associação amplo de genoma (GWAS) em uma amostra de 7.514 indivíduos com DM1 e 9.045 controles saudáveis, e encontraram uma forte associação entre o *locus* 1p13 e o risco de DM1. Em seguida, eles realizaram análises de associação condicional e haplótipo para investigar os polimorfismos responsáveis por essa associação.

Os resultados mostraram que o polimorfismo rs6679677 era o principal fator responsável pela associação do *locus* 1p13 com o risco de DM1. Além disso, os autores encontraram uma interação estatisticamente significativa entre o polimorfismo rs6679677 e os alelos do HLA classe II, que são conhecidos por serem os principais fatores de risco genético para o DM1 (SMYTH; COOPER; HOWSON; WALKER *et al.*, 2008).

Os autores concluíram que o polimorfismo rs6679677 é o principal fator responsável pela associação do *locus* 1p13 com o risco de DM1, e que a interação entre esse polimorfismo e os alelos do HLA classe II pode explicar parcialmente a complexidade genética do DM1 (SMYTH; COOPER; HOWSON; WALKER *et al.*, 2008).

A Tabela 10 abaixo demonstra as frequências alélicas e genotípicas encontradas para o polimorfismo rs6679677 no presente estudo e demais populações.

TABELA 10 – COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉICAS DO POLIMORFISMOS rs6679677 (C>A) DO GENE *PTPN2* COM DADOS DA LITERATURA

<i>PTPN22</i> – rs6679677	Genótipo (%)
---------------------------	--------------

Grupo étnico	Característica	N	CC	AC	AA	Alelo MAF (%)
Crianças	DM1	154	64,9	29,2	5,9	20,5
Presente estudo	Controle	169	72,8	26,6	0,6	13,9
Adultos	DM1	131	76,3	22,9	0,8	12,2
Presente estudo	Controle	147	79,6	18,4	2	11,2
Estonianos	DM1	154	57,1	34,5	8,4	25,6
(DOUROUDIS <i>et al.</i> , 2010)	Controle	230	74,8	22,6	2,6	13,9
Estonianos	DM1	154	57	35	8	26
	DM2	260	69	29	2	16
(KISAND <i>et al.</i> , 2012)	LADA	64	75	23	2	13
	Controle	229	75	22	3	14
Britânicos	DM1	7.500	67,7	29,1	3,2	17,7
(SMYTH <i>et al.</i> , 2008)	Controle	7.200	81,7	17,4	0,9	9,7
Norte-europeus	AIJ	444	77	21	2	13
(PRAHALAD <i>et al.</i> , 2009)	Controle	642	81	18	1	10

Abreviações: DM1 (*Diabetes mellitus* tipo 1), DM2 (*Diabetes mellitus* tipo 2), LADA (diabetes autoimune latente do adulto), AIJ (artrite idiopática juvenil)

Em negrito as frequências dos grupos em estudo e negrito e *itálico* frequências em outras populações que estão fora do intervalo de confiança para os grupos DM1 e controle em crianças.

A frequência do alelo A nos grupos controles foram similares ao descritos para as populações Europeias (Tabela 10). Já, do grupo DM1 de início na infância foi similar a descrita para a população Britânica (SMYTH *et al.*, 2008) e levemente inferior à da Estônia (KISAND *et al.*, 2012). O grupo DM1 de início na fase adulta (95% IC, 8-16%) apresentou a frequência do alelo A inferior a descrita para o grupo DM1 de início na infância na população brasileira deste estudo (95% IC, 16-25%), mas similar a descrita para LADA na população da Estônia (13%) (KISAND *et al.*, 2012).

Em outro estudo conduzido por Prahalad e colaboradores (2009), os autores analisaram a influência do polimorfismo em questão na artrite idiopática juvenil. Os resultados sugerem que variantes genéticas em loci associados com várias doenças autoimunes também podem contribuir para o risco de AIJ.

Em adição ao supracitado, esses resultados podem ter implicações mais amplas para o desenvolvimento de terapias direcionadas para múltiplas doenças autoimunes. Os valores obtidos para os controles na população estudada, estão condizentes com os encontrados no presente estudo.

Não houve associação do polimorfismo rs6679677 com as concentrações dos biomarcadores de controle glicêmico, perfil lipídico, perfil renal, perfil nutricional e perfil hepático na população estudada.

Em suma, com base nos resultados obtidos neste estudo os realizados na população Europeia (DOUROUDIS; KISAND; NEMVALTS; RAJASALU *et al.*, 2010; KISAND; UIBO, 2012; SMYTH; COOPER; HOWSON; WALKER *et al.*, 2008) o polimorfismo rs6679677 do gene *PTPN22* está associado o risco do desenvolvimento no DM1 de início na infância, mas não no de fase adulta.

5 CONCLUSÕES

- O polimorfismo rs1893217 do gene PTPN2 não foi associado a risco ou a proteção ao *Diabetes mellitus* tipo 1 de início na infância e na fase adulta;
- O polimorfismo rs1893217 do gene PTPN2 não foi associado a biomarcadores em crianças e adultos portadores de *Diabetes mellitus* tipo 1;
- O polimorfismo rs6679677 foi associado a risco ao *Diabetes mellitus* tipo 1 de início na infância;
- Crianças portadoras do alelo A do polimorfismo rs6679677 tem 1,59 vezes mais chances de desenvolver o DM1;
- O polimorfismo rs6679677 não foi associado a risco ou proteção ao *Diabetes mellitus* tipo 1 na população adulta.
- O polimorfismo rs6679677 do gene PTPN2 não foi associado a biomarcadores em crianças e adultos portadores de *Diabetes mellitus* tipo 1;

REFERÊNCIAS

ABDERRAHMANI, A.; JACOVETTI, C.; REGAZZI, R. Lessons from neonatal beta-cell epigenomic for diabetes prevention and treatment. **Trends Endocrinol Metab**, 33, n. 6, p. 378-389, Jun 2022.

ACHARJEE, S.; GHOSH, B.; AL-DHUBIAB, B. E.; NAIR, A. B. Understanding type 1 diabetes: etiology and models. **Can J Diabetes**, 37, n. 4, p. 269-276, Aug 2013.

ACHENBACH, P.; HIPPICH, M.; ZAPARDIEL-GONZALO, J.; KARGES, B. *et al.* A classification and regression tree analysis identifies subgroups of childhood type 1 diabetes. **EBioMedicine**, 82, p. 104118, Aug 2022.

ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION - Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, 45, p. S1-S258, 2022.

ADA. Standards of Care in Diabetes - 2023. 1, 46, p. S1-S291, 2023.

AGARDH, C. D.; LYNCH, K. F.; PALMER, M.; LINK, K. *et al.* GAD65 vaccination: 5 years of follow-up in a randomised dose-escalating study in adult-onset autoimmune diabetes. **Diabetologia**, 52, n. 7, p. 1363-1368, Jul 2009.

AHLQVIST, E.; STORM, P.; KARAJAMAKI, A.; MARTINELL, M. *et al.* Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 6, n. 5, p. 361-369, May 2018.

ALBERS, J. J.; MARCOVINA, S. M.; IMPERATORE, G.; SNIVELY, B. M. *et al.* Prevalence and determinants of elevated apolipoprotein B and dense low-density lipoprotein in youths with type 1 and type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, 93, n. 3, p. 735-742, Mar 2008.

ALBERTI, K. G.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabet Med**, 15, n. 7, p. 539-553, Jul 1998.

ALONSO, A.; SASIN, J.; BOTTINI, N.; FRIEDBERG, I. *et al.* Protein tyrosine phosphatases in the human genome. **Cell**, 117, n. 6, p. 699-711, Jun 11 2004.

ALONSO, G. T.; COAKLEY, A.; PYLE, L.; MANSEAU, K. *et al.* Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes in Colorado Children, 2010-2017. **Diabetes Care**, 43, n. 1, p. 117-121, Jan 2020.

ALTSHULER, D.; DALY, M. J.; LANDER, E. S. Genetic mapping in human disease. **Science**, 322, n. 5903, p. 881-888, Nov 7 2008.

ANDERSON, A. M.; LANDRY, L. G.; ALKANANI, A. A.; PYLE, L. *et al.* Human islet T cells are highly reactive to preproinsulin in type 1 diabetes. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 118, n. 41, Oct 12 2021.

ANDRADE, D. M.; CHELLINI, P. R.; JULIANA, B. L.; CORRÊA, J. O. D. A. Analysis of the urea and creatinine concentrations in seum and plasma with ethylenediaminetetraacetic acid and sodium citrate. : Revista Brasileira de Análises Clínica (RBAC) 2017.

ARAKI, E.; TANAKA, A.; INAGAKI, N.; ITO, H. *et al.* Diagnosis, prevention, and treatment of cardiovascular diseases in people with type 2 diabetes and prediabetes: a consensus statement jointly from the Japanese Circulation Society and the Japan Diabetes Society. **Diabetol Int**, 12, n. 1, p. 1-51, Jan 2021.

ARMITAGE, L. H.; WALLET, M. A.; MATHEWS, C. E. Influence of PTPN22 Allotypes on Innate and Adaptive Immune Function in Health and Disease. **Front Immunol**, 12, p. 636618, 2021.

ARRIBAS-LAYTON, D.; GUYER, P.; DELONG, T.; DANG, M. *et al.* Hybrid Insulin Peptides Are Recognized by Human T Cells in the Context of DRB1*04:01. **Diabetes**, 69, n. 7, p. 1492-1502, Jul 2020.

ASTUDILLO, M.; TOSUR, M.; CASTILLO, B.; RAFAEY, A. *et al.* Type 2 diabetes in prepubertal children. **Pediatr Diabetes**, 22, n. 7, p. 946-950, Nov 2021.

ATKINSON, M. A.; CAMPBELL-THOMPSON, M.; KUSMARTSEVA, I.; KAESTNER, K. H. Organisation of the human pancreas in health and in diabetes. **Diabetologia**, 63, n. 10, p. 1966-1973, Oct 2020.

ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G. S. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. **Lancet**, 358, n. 9277, p. 221-229, Jul 21 2001.

ATKINSON, M. A.; MACLAREN, N. K. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med**, 331, n. 21, p. 1428-1436, Nov 24 1994.

AZOURY, M. E.; TARAYRAH, M.; AFONSO, G.; PAIS, A. *et al.* Peptides Derived From Insulin Granule Proteins Are Targeted by CD8(+) T Cells Across MHC Class I Restrictions in Humans and NOD Mice. **Diabetes**, 69, n. 12, p. 2678-2690, Dec 2020.

BALASUBRAMANYAM, A.; NALINI, R.; HAMPE, C. S.; MALDONADO, M. Syndromes of ketosis-prone diabetes mellitus. **Endocr Rev**, 29, n. 3, p. 292-302, May 2008.

BANJAR, A.; ALYAFI, R.; ALGHAMDI, A.; ASSAGGAF, M. *et al.* The relationship between glycated hemoglobin level and the stage of periodontitis in individuals without diabetes. **PLoS One**, 18, n. 1, p. e0279755, 2023.

BARANZINI, S. E. The genetics of autoimmune diseases: a networked perspective. **Curr Opin Immunol**, 21, n. 6, p. 596-605, Dec 2009.

BARRETT, J. C.; CLAYTON, D. G.; CONCANNON, P.; AKOLKAR, B. *et al.* Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. **Nat Genet**, 41, n. 6, p. 703-707, Jun 2009.

BARTHSON, J.; GERMANO, C. M.; MOORE, F.; MAIDA, A. *et al.* Cytokines tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma induce pancreatic beta-cell apoptosis through STAT1-mediated Bim protein activation. **J Biol Chem**, 286, n. 45, p. 39632-39643, Nov 11 2011.

BATTAGLIA, M.; AHMED, S.; ANDERSON, M. S.; ATKINSON, M. A. *et al.* Introducing the Endotype Concept to Address the Challenge of Disease Heterogeneity in Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, 43, n. 1, p. 5-12, Jan 2020.

BELLOMO, G. Uric acid and chronic kidney disease: A time to act? **World J Nephrol**, 2, n. 2, p. 17-25, May 6 2013.

BENDER, C.; RAJENDRAN, S.; VON HERRATH, M. G. New Insights Into the Role of Autoreactive CD8 T Cells and Cytokines in Human Type 1 Diabetes. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 11, p. 606434, 2020.

BENDER, C.; RODRIGUEZ-CALVO, T.; AMIRIAN, N.; COPPIETERS, K. T. *et al.* The healthy exocrine pancreas contains preproinsulin-specific CD8 T cells that attack islets in type 1 diabetes. **Sci Adv**, 6, n. 42, Oct 2020.

BEUNEN, K.; VERCAUTER, L.; VAN CROMBRUGGE, P.; MOYSON, C. *et al.* Type 1 diabetes-related autoimmune antibodies in women with gestational diabetes mellitus and the long-term risk for glucose intolerance. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 13, p. 973820, 2022.

BIDANI, A. K.; GRIFFIN, K. A. Pathophysiology of hypertensive renal damage: implications for therapy. **Hypertension**, 44, n. 5, p. 595-601, Nov 2004.

BILBROUGH, T.; PIEMONTESE, E.; SEITZ, O. Dissecting the role of protein phosphorylation: a chemical biology toolbox. **Chem Soc Rev**, 51, n. 13, p. 5691-5730, Jul 4 2022.

BINGLEY, P. J.; BOULWARE, D. C.; KRISCHER, J. P.; TYPE 1 DIABETES TRIALNET STUDY, G. The implications of autoantibodies to a single islet antigen in relatives with normal glucose tolerance: development of other autoantibodies and progression to type 1 diabetes. **Diabetologia**, 59, n. 3, p. 542-549, Mar 2016.

BOEHME, A. K.; ESENWA, C.; ELKIND, M. S. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. **Circ Res**, 120, n. 3, p. 472-495, Feb 3 2017.

BOTTINI, N.; MUSUMECI, L.; ALONSO, A.; RAHMOUNI, S. *et al.* A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. **Nat Genet**, 36, n. 4, p. 337-338, Apr 2004.

BRAWERMAN, G.; THOMPSON, P. J. Beta Cell Therapies for Preventing Type 1 Diabetes: From Bench to Bedside. **Biomolecules**, 10, n. 12, Dec 16 2020.

BROOKS-WORRELL, B. M.; PALMER, J. P. Attenuation of islet-specific T cell responses is associated with C-peptide improvement in autoimmune type 2 diabetes patients. **Clin Exp Immunol**, 171, n. 2, p. 164-170, Feb 2013.

BROOKS-WORRELL, B. M.; REICHOW, J. L.; GOEL, A.; ISMAIL, H. *et al.* Identification of autoantibody-negative autoimmune type 2 diabetic patients. **Diabetes Care**, 34, n. 1, p. 168-173, Jan 2011.

BUCHANAN, T. A.; XIANG, A.; KJOS, S. L.; WATANABE, R. What is gestational diabetes? **Diabetes Care**, 30 Suppl 2, p. S105-111, Jul 2007.

BURGI, U.; VILLIGER, L.; DIEM, P. [Intensive insulin therapy--is it worth the effort?]. **Ther Umsch**, 52, n. 10, p. 635-638, Oct 1995.

BUSSIÈRES-MARMEN, S.; HUTCHINS, A. P.; SCHIRBEL, A.; REBERT, N. *et al.* Characterization of PTPN2 and its use as a biomarker. **Methods**, 65, n. 2, p. 239-246, 2014/01/15/ 2014.

BUTCHER, M. J.; HALLINGER, D.; GARCIA, E.; MACHIDA, Y. *et al.* Association of proinflammatory cytokines and islet resident leucocytes with islet dysfunction in type 2 diabetes. **Diabetologia**, 57, n. 3, p. 491-501, Mar 2014.

BUZZETTI, R.; DI PIETRO, S.; GIACCARI, A.; PETRONE, A. *et al.* High Titer of Autoantibodies to GAD Identifies a Specific Phenotype of Adult-Onset Autoimmune Diabetes. **Diabetes Care**, 30, n. 4, p. 932-938, 2007.

BUZZETTI, R.; DI PIETRO, S.; GIACCARI, A.; PETRONE, A. *et al.* High titer of autoantibodies to GAD identifies a specific phenotype of adult-onset autoimmune diabetes. **Diabetes Care**, 30, n. 4, p. 932-938, Apr 2007.

BUZZETTI, R.; POZZILLI, P.; FREDERICH, R.; IQBAL, N. *et al.* Saxagliptin improves glycaemic control and C-peptide secretion in latent autoimmune diabetes in adults (LADA). **Diabetes Metab Res Rev**, 32, n. 3, p. 289-296, Mar 2016.

BUZZETTI, R.; TUOMI, T.; MAURICIO, D.; PIETROPAOLO, M. *et al.* Management of Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Consensus Statement From an International Expert Panel. **Diabetes**, 69, n. 10, p. 2037-2047, Oct 2020.

CAMPOS, L. P.; GRACIOLO, V.; WELTER, M.; LOPES, M. *et al.*, 2020, **The IL18 rs1946518 and PTPN22 rs2476601 polymorphisms are not associated with adult- and childhood-onset type 1 diabetes mellitus.**

CAO, Y.; YANG, J.; COLBY, K.; HOGAN, S. L. *et al.* High basal activity of the PTPN22 gain-of-function variant blunts leukocyte responsiveness negatively affecting IL-10 production in ANCA vasculitis. **PLoS One**, 7, n. 8, p. e42783, 2012.

CAPOCCIA, K.; ODEGARD, P. S.; LETASSY, N. Medication Adherence With Diabetes Medication: A Systematic Review of the Literature. **Diabetes Educ**, 42, n. 1, p. 34-71, Feb 2016.

CARLSSON, A.; SHEPHERD, M.; ELLARD, S.; WEEDON, M. *et al.* Absence of Islet Autoantibodies and Modestly Raised Glucose Values at Diabetes Diagnosis Should Lead to Testing for MODY: Lessons From a 5-Year Pediatric Swedish National Cohort Study. **Diabetes Care**, 43, n. 1, p. 82-89, Jan 2020.

CARRE, A.; RICHARDSON, S. J.; LARGER, E.; MALLONE, R. Presumption of guilt for T cells in type 1 diabetes: lead culprits or partners in crime depending on age of onset? **Diabetologia**, 64, n. 1, p. 15-25, Jan 2021.

CASU, A.; KANAPKA, L. G.; FOSTER, N. C.; HIRSCH, I. B. *et al.* Characteristics of adult- compared to childhood-onset type 1 diabetes. **Diabet Med**, 37, n. 12, p. 2109-2115, Dec 2020.

CAVENDER, M. A.; STEG, P. G.; SMITH, S. C., JR.; EAGLE, K. *et al.* Impact of Diabetes Mellitus on Hospitalization for Heart Failure, Cardiovascular Events, and Death: Outcomes at 4 Years From the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. **Circulation**, 132, n. 10, p. 923-931, Sep 8 2015.

CEFALU, W. T.; ANDERSEN, D. K.; ARREAZA-RUBIN, G.; PIN, C. L. *et al.* Heterogeneity of Diabetes: beta-Cells, Phenotypes, and Precision Medicine: Proceedings of an International Symposium of the Canadian Institutes of Health Research's Institute of Nutrition, Metabolism and Diabetes and the U.S. National Institutes of Health's National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. **Diabetes Care**, 45, n. 1, p. 3-22, Jan 1 2022.

CENSIN, J. C.; NOWAK, C.; COOPER, N.; BERGSTEN, P. *et al.* Childhood adiposity and risk of type 1 diabetes: A Mendelian randomization study. **PLoS Med**, 14, n. 8, p. e1002362, Aug 2017.

CERASI, E. Insulin resistance, insulin deficiency, and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Diabetes Res Clin Pract**, 14 Suppl 2, p. S37-45, 1991.

CERIELLO, A.; PRATTICHIZZO, F.; PHILLIP, M.; HIRSCH, I. B. *et al.* Glycaemic management in diabetes: old and new approaches. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 10, n. 1, p. 75-84, Jan 2022.

CERIOTTI, F.; BOYD, J. C.; KLEIN, G.; HENNY, J. *et al.* Reference intervals for serum creatinine concentrations: assessment of available data for global application. **Clin Chem**, 54, n. 3, p. 559-566, Mar 2008.

CEROSALETTI, K.; BUCKNER, J. H. Protein tyrosine phosphatases and type 1 diabetes: genetic and functional implications of PTPN2 and PTPN22. **Rev Diabet Stud**, 9, n. 4, p. 188-200, Winter 2012.

CHABOSSEAU, P.; RUTTER, G. A.; MILLERSHIP, S. J. Importance of Both Imprinted Genes and Functional Heterogeneity in Pancreatic Beta Cells: Is There a Link? **Int J Mol Sci**, 22, n. 3, Jan 20 2021.

CHEN, S. The association between rs1893217, rs478582 in PTPN2 and T1D risk with different diagnosed age, and related clinical characteristics in Chinese Han population. **Autoimmunity**, 2019.

CHEN, Y. L.; HSIEH, C. C.; CHU, P. M.; CHEN, J. Y. *et al.* Roles of protein tyrosine phosphatases in hepatocellular carcinoma progression (Review). **Oncol Rep**, 49, n. 3, Mar 2023.

CHONG, M. M.; CHEN, Y.; DARWICHE, R.; DUDEK, N. L. *et al.* Suppressor of cytokine signaling-1 overexpression protects pancreatic beta cells from CD8+ T cell-mediated autoimmune destruction. **J Immunol**, 172, n. 9, p. 5714-5721, May 1 2004.

CHRIST-CRAIN, M.; WINZELER, B.; REFARDT, J. Diagnosis and management of diabetes insipidus for the internist: an update. **J Intern Med**, 290, n. 1, p. 73-87, Jul 2021.

CLAESSENS, L. A.; WESSELIUS, J.; VAN LUMMEL, M.; LABAN, S. *et al.* Clinical and genetic correlates of islet-autoimmune signatures in juvenile-onset type 1 diabetes. **Diabetologia**, 63, n. 2, p. 351-361, Feb 2020.

CLAPIN, H. F.; EARNEST, A.; COLMAN, P. G.; DAVIS, E. A. *et al.* Diabetic Ketoacidosis at Onset of Type 1 Diabetes and Long-term HbA1c in 7,961 Children and Young Adults in the Australasian Diabetes Data Network. **Diabetes Care**, 45, n. 12, p. 2918-2925, Dec 1 2022.

CLOUTIER, J. F.; VEILLETTE, A. Cooperative inhibition of T-cell antigen receptor signaling by a complex between a kinase and a phosphatase. **J Exp Med**, 189, n. 1, p. 111-121, Jan 4 1999.

COHEN, S.; DADI, H.; SHAOUL, E.; SHARFE, N. *et al.* Cloning and Characterization of a Lymphoid-Specific, Inducible Human Protein Tyrosine Phosphatase, Lyp. **Blood**, 93, n. 6, p. 2013-2024, 1999/03/15/ 1999.

COLHOUN, H. M.; OTVOS, J. D.; RUBENS, M. B.; TASKINEN, M. R. *et al.* Lipoprotein subclasses and particle sizes and their relationship with coronary artery calcification in men and women with and without type 1 diabetes. **Diabetes**, 51, n. 6, p. 1949-1956, Jun 2002.

COLMAN, P. G.; THOMAS, D. W.; ZIMMET, P. Z.; WELBORN, T. A. *et al.* New classification and criteria for diagnosis of diabetes mellitus. Position Statement from the Australian Diabetes Society, New Zealand Society for the Study of Diabetes, Royal College of Pathologists of Australasia and Australasian Association of Clinical Biochemists. **Med J Aust**, 170, n. 8, p. 375-378, Apr 19 1999.

COPPIETERS, K. T.; DOTTA, F.; AMIRIAN, N.; CAMPBELL, P. D. *et al.* Demonstration of islet-autoreactive CD8 T cells in insulinitic lesions from recent

onset and long-term type 1 diabetes patients. **J Exp Med**, 209, n. 1, p. 51-60, Jan 16 2012.

COUSMINER, D. L.; AHLQVIST, E.; MISHRA, R.; ANDERSEN, M. K. *et al.* First Genome-Wide Association Study of Latent Autoimmune Diabetes in Adults Reveals Novel Insights Linking Immune and Metabolic Diabetes. **Diabetes Care**, 41, n. 11, p. 2396-2403, Nov 2018.

CRASTO, W.; PATEL, V.; DAVIES, M. J.; KHUNTI, K. Prevention of Microvascular Complications of Diabetes. **Endocrinol Metab Clin North Am**, 50, n. 3, p. 431-455, Sep 2021.

CULINA, S.; LALANNE, A. I.; AFONSO, G.; CEROSALETTI, K. *et al.* Islet-reactive CD8(+) T cell frequencies in the pancreas, but not in blood, distinguish type 1 diabetic patients from healthy donors. **Sci Immunol**, 3, n. 20, Feb 2 2018.

DAGOGO-JACK, S. Hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus: pathophysiology and prevention. **Treat Endocrinol**, 3, n. 2, p. 91-103, 2004.

DAI, X.; JAMES, R. G.; HABIB, T.; SINGH, S. *et al.* A disease-associated PTPN22 variant promotes systemic autoimmunity in murine models. **J Clin Invest**, 123, n. 5, p. 2024-2036, May 2013.

DE LACERDA VALVERDE, B. S.; UTSUNOMIYA, H. S. M.; DOS SANTOS CARVALHO, C.; FRANCO-BELUSSI, L. *et al.* Response of hepatic biomarkers in *Physalaemus nattereri* (Anura) to different benzo(alpha)pyrene exposure routes. **Ecotoxicology**, 31, n. 3, p. 516-523, Apr 2022.

DELIGNE, C.; YOU, S.; MALLONE, R. Personalized Immunotherapies for Type 1 Diabetes: Who, What, When, and How? **J Pers Med**, 12, n. 4, Mar 29 2022.

DELONG, T.; WILES, T. A.; BAKER, R. L.; BRADLEY, B. *et al.* Pathogenic CD4 T cells in type 1 diabetes recognize epitopes formed by peptide fusion. **Science**, 351, n. 6274, p. 711-714, Feb 12 2016.

DEN HOLLANDER, N. H. M.; ROEP, B. O. From Disease and Patient Heterogeneity to Precision Medicine in Type 1 Diabetes. **Front Med (Lausanne)**, 9, p. 932086, 2022.

DENOTH, L.; JUILLERAT, P.; KREMER, A. E.; ROGLER, G. *et al.* Modulation of the Mucosa-Associated Microbiome Linked to the PTPN2 Risk Gene in Patients with Primary Sclerosing Cholangitis and Ulcerative Colitis. **Microorganisms**, 9, n. 8, Aug 17 2021.

DIBLEY, M. J.; STAEHLING, N.; NIEBURG, P.; TROWBRIDGE, F. L. Interpretation of Z-score anthropometric indicators derived from the international growth reference. **Am J Clin Nutr**, 46, n. 5, p. 749-762, Nov 1987.

DIMEGLIO, L. A.; ACERINI, C. L.; CODNER, E.; CRAIG, M. E. *et al.* ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Glycemic control targets and glucose monitoring for children, adolescents, and young adults with diabetes. **Pediatr Diabetes**, 19 Suppl 27, p. 105-114, Oct 2018.

DOLIBA, N. M.; ROZO, A. V.; ROMAN, J.; QIN, W. *et al.* alpha Cell dysfunction in islets from nondiabetic, glutamic acid decarboxylase autoantibody-positive individuals. **J Clin Invest**, 132, n. 11, Jun 1 2022.

DOUROUDIS, K.; KISAND, K.; NEMVALTS, V.; RAJASALU, T. *et al.* Allelic variants in the PHTF1-PTPN22, C12orf30 and CD226 regions as candidate susceptibility factors for the type 1 diabetes in the Estonian population. **BMC Med Genet**, 11, p. 11, Jan 20 2010.

DRAZNIN, B.; ARODA, V. R.; BAKRIS, G.; BENSON, G. *et al.* 14. Children and Adolescents: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. **Diabetes Care**, 45, n. Suppl 1, p. S208-s231, Jan 1 2022.

DUE-CHRISTENSEN, M.; BRUUN, L. D.; JOENSEN, L. E.; NORGAARD, O. *et al.* Psychosocial aspects and perspectives of adult-onset type 1 diabetes: A systematic scoping review. **Diabet Med**, 40, n. 5, p. e15073, May 2023.

EIZIRIK, D. L.; COLLI, M. L.; ORTIS, F. The role of inflammation in insulinitis and beta-cell loss in type 1 diabetes. **Nat Rev Endocrinol**, 5, n. 4, p. 219-226, Apr 2009.

ENDESFELDER, D.; ZU CASTELL, W.; BONIFACIO, E.; REWERS, M. *et al.* Time-Resolved Autoantibody Profiling Facilitates Stratification of Preclinical Type 1 Diabetes in Children. **Diabetes**, 68, n. 1, p. 119-130, Jan 2019.

ERIKSSON, N.; TUNG, J. Y.; KIEFER, A. K.; HINDS, D. A. *et al.* Novel associations for hypothyroidism include known autoimmune risk loci. **PLoS One**, 7, n. 4, p. e34442, 2012.

ESPARZA MARTIN, N.; GARCIA NIETO, V. Hypouricemia and tubular transport of uric acid. **Nefrologia**, 31, n. 1, p. 44-50, 2011. Review.

ESPOSITO, S.; TONI, G.; TASCINI, G.; SANTI, E. *et al.* Environmental Factors Associated With Type 1 Diabetes. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 10, p. 592, 2019.

EVANS, K. Diabetic ketoacidosis: update on management. **Clin Med (Lond)**, 19, n. 5, p. 396-398, Sep 2019.

FAYFMAN, M.; PASQUEL, F. J.; UMPIERREZ, G. E. Management of Hyperglycemic Crises: Diabetic Ketoacidosis and Hyperglycemic Hyperosmolar State. **Med Clin North Am**, 101, n. 3, p. 587-606, May 2017.

FEIG, D. S.; KEELY, E.; WICKLOW, B. Diagnosis of Gestational Diabetes: More Questions Than Answers. **Can J Diabetes**, 43, n. 8, p. 547-548, Dec 2019.

FERRARA-COOK, C.; GEYER, S. M.; EVANS-MOLINA, C.; LIBMAN, I. M. *et al.* Excess BMI Accelerates Islet Autoimmunity in Older Children and Adolescents. **Diabetes Care**, 43, n. 3, p. 580-587, Mar 2020.

FERRARA, C. T.; GEYER, S. M.; EVANS-MOLINA, C.; LIBMAN, I. M. *et al.* The Role of Age and Excess Body Mass Index in Progression to Type 1 Diabetes in At-Risk Adults. **J Clin Endocrinol Metab**, 102, n. 12, p. 4596-4603, Dec 1 2017.

FLOSBACH, M.; OBERLE, S. G.; SCHERER, S.; ZECHA, J. *et al.* PTPN2 Deficiency Enhances Programmed T Cell Expansion and Survival Capacity of Activated T Cells. **Cell Rep**, 32, n. 4, p. 107957, Jul 28 2020.

FORESTELL, B.; BATTAGLIA, F.; SHARIF, S.; ELTORKI, M. *et al.* Insulin Infusion Dosing in Pediatric Diabetic Ketoacidosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Crit Care Explor**, 5, n. 2, p. e0857, Feb 2023.

FORTUNE, M. D.; GUO, H.; BURREN, O.; SCHOFIELD, E. *et al.* Statistical colocalization of genetic risk variants for related autoimmune diseases in the context of common controls. **Nat Genet**, 47, n. 7, p. 839-846, Jul 2015.

FOUSTERI, G.; LIOSSIS, S. N.; BATTAGLIA, M. Roles of the protein tyrosine phosphatase PTPN22 in immunity and autoimmunity. **Clin Immunol**, 149, n. 3, p. 556-565, Dec 2013.

FREDERIKSEN, B.; LIU, E.; ROMANOS, J.; STECK, A. K. *et al.* Investigation of the vitamin D receptor gene (VDR) and its interaction with protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2 gene (PTPN2) on risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). **J Steroid Biochem Mol Biol**, 133, p. 51-57, Jan 2013.

GABBAY, M. A. L.; RODACKI, M.; CALLIARI, L. E.; VIANNA, A. G. D. *et al.* Time in range: a new parameter to evaluate blood glucose control in patients with diabetes. **Diabetol Metab Syndr**, 12, p. 22, 2020.

GABRIEL, R.; BOUKICHOU ABDELKADER, N.; ACOSTA, T.; GILIS-JANUSZEWSKA, A. *et al.* Early prevention of diabetes microvascular complications in people with hyperglycaemia in Europe. ePREDICE randomized trial. Study protocol, recruitment and selected baseline data. **PLoS One**, 15, n. 4, p. e0231196, 2020.

GARCIA-DE JESUS, R. Diabetic ketoacidosis in pediatrics: management update. **Bol Asoc Med P R**, 100, n. 2, p. 52-56, Apr-Jun 2008.

GHALWASH, M.; DUNNE, J. L.; LUNDGREN, M.; REWERS, M. *et al.* Two-age islet-autoantibody screening for childhood type 1 diabetes: a prospective cohort study. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 10, n. 8, p. 589-596, Aug 2022.

GHOZZI, M.; SOUGUIR, D.; MELAYAH, S.; ABIDI, S. *et al.* Frequency of auto-antibodies of type 1 diabetes in adult patients with celiac disease. **J Clin Lab Anal**, 35, n. 9, p. e23941, Sep 2021.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circ Res**, 107, n. 9, p. 1058-1070, Oct 29 2010.

GIANCHECCHI, E.; PALOMBI, M.; FIERABRACCI, A. The putative role of the C1858T polymorphism of protein tyrosine phosphatase PTPN22 gene in autoimmunity. **Autoimmun Rev**, 12, n. 7, p. 717-725, May 2013.

GILLESPIE, K. M. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. **CMAJ**, 175, n. 2, p. 165-170, Jul 18 2006.

GITELMAN, S. E.; BUNDY, B. N.; FERRANNINI, E.; LIM, N. *et al.* Imatinib therapy for patients with recent-onset type 1 diabetes: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 9, n. 8, p. 502-514, Aug 2021.

GIZA, S.; GOULAS, A.; GBANDI, E.; EFFRAIMIDOU, S. *et al.* The role of PTPN22 C1858T gene polymorphism in diabetes mellitus type 1: first evaluation in Greek children and adolescents. **Biomed Res Int**, 2013, p. 721604, 2013.

GJORLOFF-WINGREN, A.; SAXENA, M.; WILLIAMS, S.; HAMMI, D. *et al.* Characterization of TCR-induced receptor-proximal signaling events negatively regulated by the protein tyrosine phosphatase PEP. **Eur J Immunol**, 29, n. 12, p. 3845-3854, Dec 1999.

GONZALEZ-DUQUE, S.; AZOURY, M. E.; COLLI, M. L.; AFONSO, G. *et al.* Conventional and Neo-antigenic Peptides Presented by beta Cells Are Targeted by Circulating Naive CD8+ T Cells in Type 1 Diabetic and Healthy Donors. **Cell Metab**, 28, n. 6, p. 946-960 e946, Dec 4 2018.

GOTTSATER, A.; LANDIN-OLSSON, M.; LERNMARK, A.; FERNLUND, P. *et al.* Glutamate decarboxylase antibody levels predict rate of beta-cell decline in adult-onset diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, 27, n. 2, p. 133-140, Feb 1995.

GREGERSEN, P. K.; BEHRENS, T. W. Genetics of autoimmune diseases--disorders of immune homeostasis. **Nat Rev Genet**, 7, n. 12, p. 917-928, Dec 2006.

GROOP, L. C.; WIDEN, E.; FERRANNINI, E. Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: errors of metabolism or of methods? **Diabetologia**, 36, n. 12, p. 1326-1331, Dec 1993.

GURZOV, E. N.; STANLEY, W. J.; BRODNICKI, T. C.; THOMAS, H. E. Protein tyrosine phosphatases: molecular switches in metabolism and diabetes. **Trends Endocrinol Metab**, 26, n. 1, p. 30-39, Jan 2015.

GUTHRIE, R. A.; GUTHRIE, D. W. Pathophysiology of diabetes mellitus. **Crit Care Nurs Q**, 27, n. 2, p. 113-125, Apr-Jun 2004.

GUTIERREZ, G. D.; GROMADA, J.; SUSSEL, L. Heterogeneity of the Pancreatic Beta Cell. **Front Genet**, 8, p. 22, 2017.

GUY, J.; OGDEN, L.; WADWA, R. P.; HAMMAN, R. F. *et al.* Lipid and lipoprotein profiles in youth with and without type 1 diabetes: the SEARCH for Diabetes in Youth case-control study. **Diabetes Care**, 32, n. 3, p. 416-420, Mar 2009.

GUYER, P.; ARRIBAS-LAYTON, D.; MANGANARO, A.; SPEAKE, C. *et al.* Recognition of mRNA Splice Variant and Secretory Granule Epitopes by CD4+ T Cells in Type 1 Diabetes. **Diabetes**, 72, n. 1, p. 85-96, Jan 1 2023.

GYSEMANS, C. A.; LADRIERE, L.; CALLEWAERT, H.; RASSCHAERT, J. *et al.* Disruption of the gamma-interferon signaling pathway at the level of signal transducer and activator of transcription-1 prevents immune destruction of beta-cells. **Diabetes**, 54, n. 8, p. 2396-2403, Aug 2005.

HABIB, T.; FUNK, A.; RIECK, M.; BRAHMANDAM, A. *et al.* Altered B cell homeostasis is associated with type 1 diabetes and carriers of the PTPN22 allelic variant. **J Immunol**, 188, n. 1, p. 487-496, Jan 1 2012.

HALALAU, A.; ROY, S.; HEGDE, A.; KHANAL, S. *et al.* Risk factors associated with glycated hemoglobin A1c trajectories progressing to type 2 diabetes. **Ann Med**, 55, n. 1, p. 371-378, Dec 2023.

HANDWERGER, B. S.; FERNANDES, G.; BROWN, D. M. Immune and autoimmune aspects of diabetes mellitus. **Hum Pathol**, 11, n. 4, p. 338-352, Jul 1980.

HARDER, K. W.; MOLLER, N. P.; PEACOCK, J. W.; JIRIK, F. R. Protein-tyrosine phosphatase alpha regulates Src family kinases and alters cell-substratum adhesion. **J Biol Chem**, 273, n. 48, p. 31890-31900, Nov 27 1998.

HARRIS, M. I. Classification and diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. **Prim Care**, 15, n. 2, p. 205-225, Jun 1988.

HASEGAWA, K.; MARTIN, F.; HUANG, G.; TUMAS, D. *et al.* PEST domain-enriched tyrosine phosphatase (PEP) regulation of effector/memory T cells. **Science**, 303, n. 5658, p. 685-689, Jan 30 2004.

HENSMAN, C. J.; GOOLEY, J. L.; JANUSZEWSKI, A. S.; LEE, M. H. *et al.* Insulin antibodies are prevalent in adults with type 1 diabetes referred for islet cell transplantation and are modified by islet transplantation and immunosuppression: an Australian experience. **Intern Med J**, 52, n. 8, p. 1434-1436, Aug 2022.

HEROLD, K. C.; BUNDY, B. N.; LONG, S. A.; BLUESTONE, J. A. *et al.* An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. **N Engl J Med**, 381, n. 7, p. 603-613, Aug 15 2019.

HINKS, A.; COBB, J.; MARION, M. C.; PRAHALAD, S. *et al.* Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis. **Nat Genet**, 45, n. 6, p. 664-669, Jun 2013.

HOLT, R. I. G.; DEVRIES, J. H.; HESS-FISCHL, A.; HIRSCH, I. B. *et al.* The Management of Type 1 Diabetes in Adults. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). **Diabetes Care**, 44, n. 11, p. 2589-2625, Nov 2021.

HOLT, R. I. G.; DEVRIES, J. H.; HESS-FISCHL, A.; HIRSCH, I. B. *et al.* The management of type 1 diabetes in adults. A consensus report by the American

Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). **Diabetologia**, 64, n. 12, p. 2609-2652, 2021/12/01 2021.

HOPE, S. V.; WIENAND-BARNETT, S.; SHEPHERD, M.; KING, S. M. *et al.* Practical Classification Guidelines for Diabetes in patients treated with insulin: a cross-sectional study of the accuracy of diabetes diagnosis. **Br J Gen Pract**, 66, n. 646, p. e315-322, May 2016.

HOSSZUFALUSI, N.; VATAY, A.; RAJCZY, K.; PROHASZKA, Z. *et al.* Similar genetic features and different islet cell autoantibody pattern of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) compared with adult-onset type 1 diabetes with rapid progression. **Diabetes Care**, 26, n. 2, p. 452-457, Feb 2003.

HOWSON, J. M.; ROSINGER, S.; SMYTH, D. J.; BOEHM, B. O. *et al.* Genetic analysis of adult-onset autoimmune diabetes. **Diabetes**, 60, n. 10, p. 2645-2653, Oct 2011.

HUANG, D.; REFAAT, M.; MOHAMMEDI, K.; JAYYOUSI, A. *et al.* Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes. **Biomed Res Int**, 2017, p. 7839101, 2017.

HUBBARD, S. R.; TILL, J. H. Protein tyrosine kinase structure and function. **Annu Rev Biochem**, 69, p. 373-398, 2000.

HUGHES, D. S.; UNIVERSITY OF BIRMINGHAM. COLLEGE OF, M.; DENTAL, S. **A study of gut hormones in type 1 diabetes**. 2016.

HUISMAN, G. J. J.; SPRAAKMAN, N. A.; KOOMEN, J. V.; TALSMAN, A. M. *et al.* Urinary Biomarkers in a Living Donor Kidney Transplantation Cohort-Predictive Value on Graft Function. **Int J Mol Sci**, 24, n. 6, Mar 15 2023.

HUMMEL, M. [Latent autoimmune diabetes in adults]. **MMW Fortschr Med**, 162, n. 11, p. 60-63, Jun 2020.

ILONEN, J.; LAINE, A. P.; KIVINIEMI, M.; HARKONEN, T. *et al.* Associations between deduced first islet specific autoantibody with sex, age at diagnosis and genetic risk factors in young children with type 1 diabetes. **Pediatr Diabetes**, 23, n. 6, p. 693-702, Sep 2022.

INSEL, R. A.; DUNNE, J. L.; ATKINSON, M. A.; CHIANG, J. L. *et al.* Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, 38, n. 10, p. 1964-1974, Oct 2015.

INSHAW, J. R. J.; CUTLER, A. J.; CROUCH, D. J. M.; WICKER, L. S. *et al.* Genetic Variants Predisposing Most Strongly to Type 1 Diabetes Diagnosed Under Age 7 Years Lie Near Candidate Genes That Function in the Immune System and in Pancreatic beta-Cells. **Diabetes Care**, 43, n. 1, p. 169-177, Jan 2020.

IVANDIC, M.; CIGROVSKI BERKOVIC, M.; ORMANAC, K.; SABO, D. *et al.* Management of Glycemia during Acute Aerobic and Resistance Training in Patients with Diabetes Type 1: A Croatian Pilot Study. **Int J Environ Res Public Health**, 20, n. 6, Mar 11 2023.

JACOBSEN, L. M.; BOCCHINO, L.; EVANS-MOLINA, C.; DIMEGLIO, L. *et al.* The risk of progression to type 1 diabetes is highly variable in individuals with multiple autoantibodies following screening. **Diabetologia**, 63, n. 3, p. 588-596, Mar 2020.

JARVISALO, M. J.; PUTTO-LAURILA, A.; JARTTI, L.; LEHTIMAKI, T. *et al.* Carotid artery intima-media thickness in children with type 1 diabetes. **Diabetes**, 51, n. 2, p. 493-498, Feb 2002.

JENSEN, E. T.; STAFFORD, J. M.; SAYDAH, S.; D'AGOSTINO, R. B. *et al.* Increase in Prevalence of Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis Among Youth With Type 1 Diabetes: The SEARCH for Diabetes in Youth Study. **Diabetes Care**, 44, n. 7, p. 1573-1578, Jul 2021.

JERRAM, S. T.; LESLIE, R. D. The Genetic Architecture of Type 1 Diabetes. **Genes (Basel)**, 8, n. 8, Aug 22 2017.

JOHNSON, C. V.; COOL, D. E.; GLACCUM, M. B.; GREEN, N. *et al.* Isolation and mapping of human T-cell protein tyrosine phosphatase sequences: localization of genes and pseudogenes discriminated using fluorescence hybridization with genomic versus cDNA probes. **Genomics**, 16, n. 3, p. 619-629, Jun 1993.

JOHNSON, C. V.; COOL, D. E.; GLACCUM, M. B.; GREEN, N. *et al.* Isolation and Mapping of Human T-Cell Protein Tyrosine Phosphatase Sequences: Localization of Genes and Pseudogenes Discriminated Using Fluorescence Hybridization with Genomic versus cDNA Probes. **Genomics**, 16, n. 3, p. 619-629, 1993/06/01/ 1993.

JOISH, V. N.; ZHOU, F. L.; PREBLICK, R.; LIN, D. *et al.* Estimation of Annual Health Care Costs for Adults with Type 1 Diabetes in the United States. **J Manag Care Spec Pharm**, 26, n. 3, p. 311-318, Mar 2020.

JONES, A. G.; HATTERSLEY, A. T. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes. **Diabet Med**, 30, n. 7, p. 803-817, Jul 2013.

JUNEJA, R.; PALMER, J. P. Type 1 1/2 diabetes: myth or reality? **Autoimmunity**, 29, n. 1, p. 65-83, 1999.

KAHM, K.; LAXY, M.; SCHNEIDER, U.; ROGOWSKI, W. H. *et al.* Health Care Costs Associated With Incident Complications in Patients With Type 2 Diabetes in Germany. **Diabetes Care**, 41, n. 5, p. 971-978, May 2018.

KALIDOSS, R.; UMAPATHY, S. An overview on the exponential growth of non-invasive diagnosis of diabetes mellitus from exhaled breath by nanostructured metal oxide Chemi-resistive gas sensors and mu-preconcentrator. **Biomed Microdevices**, 22, n. 1, p. 2, Dec 3 2019.

KARUNAKARAN, U.; PARK, K. G. A systematic review of oxidative stress and safety of antioxidants in diabetes: focus on islets and their defense. **Diabetes Metab J**, 37, n. 2, p. 106-112, Apr 2013.

KATSAROU, A.; GUDBJORNSDOTTIR, S.; RAWSHANI, A.; DABELEA, D. *et al.* Type 1 diabetes mellitus. **Nat Rev Dis Primers**, 3, p. 17016, Mar 30 2017.

KATTE, J. C.; MCDONALD, T. J.; SOBNGWI, E.; JONES, A. G. The phenotype of type 1 diabetes in sub-Saharan Africa. **Front Public Health**, 11, p. 1014626, 2023.

KAUL, K.; TARR, J. M.; AHMAD, S. I.; KOHNER, E. M. *et al.* Introduction to diabetes mellitus. **Adv Exp Med Biol**, 771, p. 1-11, 2012.

KAWABATA, Y.; IKEGAMI, H.; AWATA, T.; IMAGAWA, A. *et al.* Differential association of HLA with three subtypes of type 1 diabetes: fulminant, slowly progressive and acute-onset. **Diabetologia**, 52, n. 12, p. 2513-2521, Dec 2009.

KAWAHARA, Y.; KARIYA, K.; FUKUZAKI, H. [Pathogenesis of atherosclerosis and blood platelets: platelet-derived growth factor and atherosclerosis]. **Nihon Rinsho**, 46, n. 3, p. 565-573, Mar 1988.

KHAN, F. Y.; KAUSER, H.; PALAKEEL, J. J.; ALI, M. *et al.* Role of Uric Acid Levels in the Development of Gestational Diabetes Mellitus: A Review. **Cureus**, 14, n. 11, p. e31057, Nov 2022.

KHAN, M. B.; SCHERZER, R.; LEWIS, C. E.; MALHOTRA, R. *et al.* Associations of Urine Biomarkers of Kidney Tubule Health With Incident Hypertension and

Longitudinal Blood Pressure Change in Middle-Aged Adults: The CARDIA Study. **Hypertension**, Mar 29 2023.

KHAN, S. A.; DEMIDOWICH, A. P.; TSCHUDY, M. M.; WEDLER, J. *et al.* Increasing Frequency of Hemoglobin A1C Measurements in Hospitalized Patients With Diabetes: A Quality Improvement Project Using Lean Six Sigma. **J Diabetes Sci Technol**, p. 19322968231153883, Feb 14 2023.

KIM, C.; NEWTON, K. M.; KNOPP, R. H. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. **Diabetes Care**, 25, n. 10, p. 1862-1868, Oct 2002.

KIM, S.; KIM, H. S.; CHUNG, K. W.; OH, S. H. *et al.* Essential role for signal transducer and activator of transcription-1 in pancreatic beta-cell death and autoimmune type 1 diabetes of nonobese diabetic mice. **Diabetes**, 56, n. 10, p. 2561-2568, Oct 2007.

KISAND, K.; UIBO, R. LADA and T1D in Estonian population - two different genetic risk profiles. **Gene**, 497, n. 2, p. 285-291, Apr 15 2012.

KOBAYASHI, T. Subtype of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) in Japan: slowly progressive IDDM--the clinical characteristics and pathogenesis of the syndrome. **Diabetes Res Clin Pract**, 24 Suppl, p. S95-99, Oct 1994.

KORMENDY, D.; HOFF, H.; HOFF, P.; BROKER, B. M. *et al.* Impact of the CTLA-4/CD28 axis on the processes of joint inflammation in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum**, 65, n. 1, p. 81-87, Jan 2013.

KORNERUP, K.; NORDESTGAARD, B. G.; FELDT-RASMUSSEN, B.; BORCH-JOHNSEN, K. *et al.* Increased transvascular low density lipoprotein transport in insulin dependent diabetes: a mechanistic model for development of atherosclerosis. **Atherosclerosis**, 170, n. 1, p. 163-168, Sep 2003.

KRISCHER, J. P.; LIU, X.; LERNMARK, A.; HAGOPIAN, W. A. *et al.* Characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes before vs after 6 years of age in the TEDDY cohort study. **Diabetologia**, 64, n. 10, p. 2247-2257, Oct 2021.

KRISCHER, J. P.; LIU, X.; LERNMARK, A.; HAGOPIAN, W. A. *et al.* Predictors of the Initiation of Islet Autoimmunity and Progression to Multiple Autoantibodies and Clinical Diabetes: The TEDDY Study. **Diabetes Care**, 45, n. 10, p. 2271-2281, Oct 1 2022.

KRISHNAN, S.; COPELAND, K. C.; BRIGHT, B. C.; GARDNER, A. W. *et al.* Impact of type 1 diabetes and body weight status on cardiovascular risk factors in adolescent children. **J Clin Hypertens (Greenwich)**, 13, n. 5, p. 351-356, May 2011.

KROGVOLD, L.; GENONI, A.; PUGGIONI, A.; CAMPANI, D. *et al.* Live enteroviruses, but not other viruses, detected in human pancreas at the onset of type 1 diabetes in the DiViD study. **Diabetologia**, 65, n. 12, p. 2108-2120, Dec 2022.

KURKELA, O.; NEVALAINEN, J.; ARFFMAN, M.; LAHTELA, J. *et al.* Foot-related diabetes complications: care pathways, patient profiles and costs. **BMC Health Serv Res**, 22, n. 1, p. 559, Apr 26 2022.

LAFLEUR, M. W.; NGUYEN, T. H.; COXE, M. A.; MILLER, B. C. *et al.* PTPN2 regulates the generation of exhausted CD8(+) T cell subpopulations and restrains tumor immunity. **Nat Immunol**, 20, n. 10, p. 1335-1347, Oct 2019.

LAINE, A. P.; VALTA, M.; TOPPARI, J.; KNIP, M. *et al.* Non-HLA Gene Polymorphisms in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes: Phase and Endotype Specific Effects. **Front Immunol**, 13, p. 909020, 2022.

LAISK, T.; LEPAMETS, M.; KOEL, M.; ABNER, E. *et al.* Genome-wide association study identifies five risk loci for pernicious anemia. **Nat Commun**, 12, n. 1, p. 3761, Jun 18 2021.

LEE, J.; KIM, M. H.; LEE, J. M.; CHANG, S. A. Does Pitavastatin Therapy for Patients with Type 2 Diabetes and Dyslipidemia Affect Serum Adiponectin Levels and Insulin Sensitivity? **J Clin Med**, 11, n. 22, Nov 15 2022.

LEE, Y.; KIM, Y. A.; SEO, J. H. Causal Association of Obesity and Dyslipidemia with Type 2 Diabetes: A Two-Sample Mendelian Randomization Study. **Genes (Basel)**, 13, n. 12, Dec 19 2022.

LEETE, P.; MALLONE, R.; RICHARDSON, S. J.; SOSENKO, J. M. *et al.* The Effect of Age on the Progression and Severity of Type 1 Diabetes: Potential Effects on Disease Mechanisms. **Curr Diab Rep**, 18, n. 11, p. 115, Sep 26 2018.

LEETE, P.; ORAM, R. A.; MCDONALD, T. J.; SHIELDS, B. M. *et al.* Studies of insulin and proinsulin in pancreas and serum support the existence of aetiopathological endotypes of type 1 diabetes associated with age at diagnosis. **Diabetologia**, 63, n. 6, p. 1258-1267, Jun 2020.

LEETE, P.; WILLCOX, A.; KROGVOLD, L.; DAHL-JORGENSEN, K. *et al.* Differential Insulinitic Profiles Determine the Extent of beta-Cell Destruction and the Age at Onset of Type 1 Diabetes. **Diabetes**, 65, n. 5, p. 1362-1369, May 2016.

LEJLIC, S.; HOLMAAS, G.; LOVAS, K.; UELAND, G. A. Diabetic ketoacidosis with SGLT2 inhibitor use - a patient series. **Tidsskr Nor Lægeforen**, 143, n. 3, Feb 21 2023.

LESLIE, R. D.; EVANS-MOLINA, C.; FREUND-BROWN, J.; BUZZETTI, R. *et al.* Adult-Onset Type 1 Diabetes: Current Understanding and Challenges. **Diabetes Care**, 44, n. 11, p. 2449-2456, 2021.

LETTRE, G.; RIOUX, J. D. Autoimmune diseases: insights from genome-wide association studies. **Hum Mol Genet**, 17, n. R2, p. R116-121, Oct 15 2008.

LI, B.; CHEN, L.; HU, X.; TAN, T. *et al.* Association of Serum Uric Acid With All-Cause and Cardiovascular Mortality in Diabetes. **Diabetes Care**, 46, n. 2, p. 425-433, Feb 1 2023.

LI, H.; ZHANG, P.; LIU, C.; WANG, Y. *et al.* The Structure, Function and Regulation of Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type J and Its Role in Diseases. **Cells**, 12, n. 1, Dec 20 2022.

LI, W.; HUANG, E.; GAO, S. Type 1 Diabetes Mellitus and Cognitive Impairments: A Systematic Review. **J Alzheimers Dis**, 57, n. 1, p. 29-36, 2017.

LI, Y.; SUN, F.; YUE, T. T.; WANG, F. X. *et al.* Revisiting the Antigen-Presenting Function of beta Cells in T1D Pathogenesis. **Front Immunol**, 12, p. 690783, 2021.

LI, Y.; ZHOU, H.; LI, Y.; HAN, L. *et al.* PTPN22 improved renal injury and fibrosis by suppressing STAT-induced inflammation in early diabetic nephropathy. **J Cell Mol Med**, 23, n. 6, p. 4179-4195, Jun 2019.

LI, Z.; HAN, D.; QI, T.; DENG, J. *et al.* Hemoglobin A1c in type 2 diabetes mellitus patients with preserved ejection fraction is an independent predictor of left ventricular myocardial deformation and tissue abnormalities. **BMC Cardiovasc Disord**, 23, n. 1, p. 49, Jan 25 2023.

LIANG, J.; SHI, X.; FENG, H.; CHEN, M. *et al.* 1,5-anhydroglucitol biosensor based on light-addressable potentiometric sensor with RGO-CS-Fc/Au NPs nanohybrids. **Bioelectrochemistry**, 142, p. 107938, Dec 2021.

LIBMAN, I. M.; BECKER, D. J. Coexistence of type 1 and type 2 diabetes mellitus: "double" diabetes? **Pediatr Diabetes**, 4, n. 2, p. 110-113, Jun 2003.

LIN, L.; WANG, A.; JIA, X.; WANG, H. *et al.* High hemoglobin glycation index is associated with increased risk of diabetes: A population-based cohort study in China. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 14, p. 1081520, 2023.

LIU, B.; XIANG, Y.; LIU, Z.; ZHOU, Z. Past, present and future of latent autoimmune diabetes in adults. **Diabetes Metab Res Rev**, 36, n. 1, p. e3205, Jan 2020.

LOHMANN, T.; KELLNER, K.; VERLOHREN, H. J.; KRUG, J. *et al.* Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA). **Diabetologia**, 44, n. 8, p. 1005-1010, Aug 2001.

LONG, A. E.; WILSON, I. V.; BECKER, D. J.; LIBMAN, I. M. *et al.* Characteristics of slow progression to diabetes in multiple islet autoantibody-positive individuals from five longitudinal cohorts: the SNAIL study. **Diabetologia**, 61, n. 6, p. 1484-1490, Jun 2018.

LONG, S. A.; CEROSALETTI, K.; WAN, J. Y.; HO, J. C. *et al.* An autoimmune-associated variant in PTPN2 reveals an impairment of IL-2R signaling in CD4(+) T cells. **Genes Immun**, 12, n. 2, p. 116-125, Mar 2011.

LORENZEN, J. A.; DADABAY, C. Y.; FISCHER, E. H. COOH-terminal sequence motifs target the T cell protein tyrosine phosphatase to the ER and nucleus. **J Cell Biol**, 131, n. 3, p. 631-643, Nov 1995.

LUC, K.; SCHRAMM-LUC, A.; GUZIK, T. J.; MIKOLAJCZYK, T. P. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. **J Physiol Pharmacol**, 70, n. 6, Dec 2019.

LUDVIGSSON, J. C-peptide in diabetes diagnosis and therapy. **Front Biosci (Elite Ed)**, 5, n. 1, p. 214-223, Jan 1 2013.

LUKAWSKA-TATARCZUK, M. M.; PAWLAK, A.; ZIELINSKI, J.; FRANEK, E. *et al.* Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography. **Endokrynol Pol**, Aug 16 2022.

MACIOLEK, J. A.; PASTERNAK, J. A.; WILSON, H. L. Metabolism of activated T lymphocytes. **Curr Opin Immunol**, 27, p. 60-74, Apr 2014.

MALLONE, R.; HALLIEZ, C.; RUI, J.; HEROLD, K. C. The beta-Cell in Type 1 Diabetes Pathogenesis: A Victim of Circumstances or an Instigator of Tragic Events? **Diabetes**, 71, n. 8, p. 1603-1610, Aug 1 2022.

MARGEIRSDOTTIR, H. D.; LARSEN, J. R.; BRUNBORG, C.; OVERBY, N. C. *et al.* High prevalence of cardiovascular risk factors in children and adolescents with type 1 diabetes: a population-based study. **Diabetologia**, 51, n. 4, p. 554-561, Apr 2008.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B., 3RD. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **J Biochem Mol Toxicol**, 17, n. 1, p. 24-38, 2003.

MARROQUI, L.; DOS SANTOS, R. S.; OP DE BEECK, A.; COOMANS DE BRACHENE, A. *et al.* Interferon-alpha mediates human beta cell HLA class I overexpression, endoplasmic reticulum stress and apoptosis, three hallmarks of early human type 1 diabetes. **Diabetologia**, 60, n. 4, p. 656-667, Apr 2017.

MARROQUI, L.; SANTIN, I.; DOS SANTOS, R. S.; MARSELLI, L. *et al.* BACH2, a candidate risk gene for type 1 diabetes, regulates apoptosis in pancreatic beta-cells via JNK1 modulation and crosstalk with the candidate gene PTPN2. **Diabetes**, 63, n. 7, p. 2516-2527, Jul 2014.

MATIJEVIC, T.; TALAPKO, J.; MESTROVIC, T.; MATIJEVIC, M. *et al.* Understanding the multifaceted etiopathogenesis of foot complications in individuals with diabetes. **World J Clin Cases**, 11, n. 8, p. 1669-1683, Mar 16 2023.

MAYFIELD, J. Diagnosis and classification of diabetes mellitus: new criteria. **Am Fam Physician**, 58, n. 6, p. 1355-1362, 1369-1370, Oct 15 1998.

MCALLISTER, D. A.; READ, S. H.; KERSSSENS, J.; LIVINGSTONE, S. *et al.* Incidence of Hospitalization for Heart Failure and Case-Fatality Among 3.25 Million People With and Without Diabetes Mellitus. **Circulation**, 138, n. 24, p. 2774-2786, Dec 11 2018.

MCINERNEY, A. M.; LINDEKILDE, N.; NOUWEN, A.; SCHMITZ, N. *et al.* Diabetes Distress, Depressive Symptoms, and Anxiety Symptoms in People With Type 2 Diabetes: A Network Analysis Approach to Understanding Comorbidity. **Diabetes Care**, 45, n. 8, p. 1715-1723, Aug 1 2022.

MIGALA, M.; CHALUBINSKA-FENDLER, J.; ZIELINSKA, M. 1,5-Anhydroglucitol as a Marker of Acute Hyperglycemia in Cardiovascular Events. **Rev Diabet Stud**, 18, n. 2, p. 68-75, Jun 30 2022.

MIRANDA, M. A.; MACIAS-VELASCO, J. F.; LAWSON, H. A. Pancreatic beta-cell heterogeneity in health and diabetes: classes, sources, and subtypes. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 320, n. 4, p. E716-E731, Apr 1 2021.

MISHRA, R.; CHESI, A.; COUSMINER, D. L.; HAWA, M. I. *et al.* Relative contribution of type 1 and type 2 diabetes loci to the genetic etiology of adult-onset, non-insulin-requiring autoimmune diabetes. **BMC Med**, 15, n. 1, p. 88, Apr 25 2017.

MISHRA, R.; HODGE, K. M.; COUSMINER, D. L.; LESLIE, R. D. *et al.* A Global Perspective of Latent Autoimmune Diabetes in Adults. **Trends Endocrinol Metab**, 29, n. 9, p. 638-650, Sep 2018.

MOBASSERI, M.; SHIRMOHAMMADI, M.; AMIRI, T.; VAHED, N. *et al.* Prevalence and incidence of type 1 diabetes in the world: a systematic review and meta-analysis. **Health Promot Perspect**, 10, n. 2, p. 98-115, 2020.

MOORE, F.; COLLI, M. L.; CNOP, M.; ESTEVE, M. I. *et al.* PTPN2, a candidate gene for type 1 diabetes, modulates interferon-gamma-induced pancreatic beta-cell apoptosis. **Diabetes**, 58, n. 6, p. 1283-1291, Jun 2009.

NAKAYAMA, M.; ABIRU, N.; MORIYAMA, H.; BABAYA, N. *et al.* Prime role for an insulin epitope in the development of type 1 diabetes in NOD mice. **Nature**, 435, n. 7039, p. 220-223, May 12 2005.

NAMIPASHAKI, A.; RAZAGHI-MOGHADAM, Z.; ANSARI-POUR, N. The Essentiality of Reporting Hardy-Weinberg Equilibrium Calculations in Population-Based Genetic Association Studies. **Cell J**, 17, n. 2, p. 187-192, Summer 2015.

NASIRI, H.; FOROUZANDEH, M.; RASAEI, M. J.; RAHBARIZADEH, F. Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. **J Clin Lab Anal**, 19, n. 6, p. 229-232, 2005.

NASRALLAH, M.; TAMIM, H.; MAILHAC, A.; ALBUHAIRAN, F. Lifestyle habits in Saudi adolescents with diagnosed diabetes: An opportunity for health promotion. **PLoS One**, 17, n. 8, p. e0270807, 2022.

NATHAN, B. M.; BOULWARE, D.; GEYER, S.; ATKINSON, M. A. *et al.* Dysglycemia and Index60 as Prediagnostic End Points for Type 1 Diabetes Prevention Trials. **Diabetes Care**, 40, n. 11, p. 1494-1499, Nov 2017.

NEKOUA, M. P.; ALIDJINOUE, E. K.; HOBER, D. Persistent coxsackievirus B infection and pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. **Nat Rev Endocrinol**, 18, n. 8, p. 503-516, Aug 2022.

NIECHCIAL, A.; BUTTER, M.; MANZ, S.; OBIALO, N. *et al.* Presence of PTPN2 SNP rs1893217 Enhances the Anti-inflammatory Effect of Spermidine. **Inflamm Bowel Dis**, 26, n. 7, p. 1038-1049, Jun 18 2020.

NIGRO, N.; GROSSMANN, M.; CHIANG, C.; INDER, W. J. Polyuria-polydipsia syndrome: a diagnostic challenge. **Intern Med J**, 48, n. 3, p. 244-253, Mar 2018.

NISHIMURA, A.; MATSUMURA, K.; KIKUNO, S.; NAGASAWA, K. *et al.* Slowly Progressive Type 1 Diabetes Mellitus: Current Knowledge And Future Perspectives. **Diabetes Metab Syndr Obes**, 12, p. 2461-2477, 2019.

NKONGE, K. M.; NKONGE, D. K.; NKONGE, T. N. The epidemiology, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment of maturity-onset diabetes of the young (MODY). **Clin Diabetes Endocrinol**, 6, n. 1, p. 20, Nov 4 2020.

NOCTOR, E.; CROWE, C.; CARMODY, L. A.; SAUNDERS, J. A. *et al.* Abnormal glucose tolerance post-gestational diabetes mellitus as defined by the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria. **Eur J Endocrinol**, 175, n. 4, p. 287-297, Oct 2016.

NYENWE, E. A.; KITABCHI, A. E. The evolution of diabetic ketoacidosis: An update of its etiology, pathogenesis and management. **Metabolism**, 65, n. 4, p. 507-521, Apr 2016.

ONENGUT-GUMUSCU, S.; BUCKNER, J. H.; CONCANNON, P. A haplotype-based analysis of the PTPN22 locus in type 1 diabetes. **Diabetes**, 55, n. 10, p. 2883-2889, Oct 2006.

ONENGUT-GUMUSCU, S.; CHEN, W. M.; ROBERTSON, C. C.; BONNIE, J. K. *et al.* Type 1 Diabetes Risk in African-Ancestry Participants and Utility of an Ancestry-Specific Genetic Risk Score. **Diabetes Care**, 42, n. 3, p. 406-415, Mar 2019.

ORAM, R. A.; PATEL, K.; HILL, A.; SHIELDS, B. *et al.* A Type 1 Diabetes Genetic Risk Score Can Aid Discrimination Between Type 1 and Type 2 Diabetes in Young Adults. **Diabetes Care**, 39, n. 3, p. 337-344, Mar 2016.

ORCHARD, T. J.; VIRELLA, G.; FORREST, K. Y.; EVANS, R. W. *et al.* Antibodies to oxidized LDL predict coronary artery disease in type 1 diabetes: a nested case-

control study from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. **Diabetes**, 48, n. 7, p. 1454-1458, Jul 1999.

OVALLE, F.; GRIMES, T.; XU, G.; PATEL, A. J. *et al.* Verapamil and beta cell function in adults with recent-onset type 1 diabetes. **Nat Med**, 24, n. 8, p. 1108-1112, Aug 2018.

PANDEY, A.; CHAWLA, S.; GUCHHAIT, P. Type-2 diabetes: Current understanding and future perspectives. **IUBMB Life**, 67, n. 7, p. 506-513, Jul 2015.

PAPATHEODOROU, K.; PAPANAS, N.; BANACH, M.; PAPAZOGLU, D. *et al.* Complications of Diabetes 2016. **J Diabetes Res**, 2016, p. 6989453, 2016.

PARVIAINEN, A.; HARKONEN, T.; ILONEN, J.; BUT, A. *et al.* Heterogeneity of Type 1 Diabetes at Diagnosis Supports Existence of Age-Related Endotypes. **Diabetes Care**, 45, n. 4, p. 871-879, Apr 1 2022.

PENAFUERTE, C.; FELDHAMMER, M.; MILLS, J. R.; VINETTE, V. *et al.* Downregulation of PTP1B and TC-PTP phosphatases potentiate dendritic cell-based immunotherapy through IL-12/IFN γ signaling. **Oncoimmunology**, 6, n. 6, p. e1321185, 2017.

PEREIRA, V. O.; ACURCIO FDE, A.; GUERRA JUNIOR, A. A.; SILVA, G. D. *et al.* [Use of medicines by individuals with hypertension and diabetes in municipalities covered by the Pharmacy Network in Minas Gerais State, Brazil]. **Cad Saude Publica**, 28, n. 8, p. 1546-1558, Aug 2012.

PIGANELLI, J. D.; MAMULA, M. J.; JAMES, E. A. The Role of beta Cell Stress and Neo-Epitopes in the Immunopathology of Type 1 Diabetes. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 11, p. 624590, 2020.

PINERO-PILONA, A.; RASKIN, P. Idiopathic Type 1 diabetes. **J Diabetes Complications**, 15, n. 6, p. 328-335, Nov-Dec 2001.

PIPELEERS, D. G. Heterogeneity in pancreatic beta-cell population. **Diabetes**, 41, n. 7, p. 777-781, Jul 1992.

POCIOT, F.; AKOLKAR, B.; CONCANNON, P.; ERLICH, H. A. *et al.* Genetics of type 1 diabetes: what's next? **Diabetes**, 59, n. 7, p. 1561-1571, Jul 2010.

POWERS, A. C. Type 1 diabetes mellitus: much progress, many opportunities. **J Clin Invest**, 131, n. 8, Apr 15 2021.

POZZILLI, P.; PIERALICE, S. Latent Autoimmune Diabetes in Adults: Current Status and New Horizons. **Endocrinol Metab (Seoul)**, 33, n. 2, p. 147-159, Jun 2018.

PRAHALAD, S.; HANSEN, S.; WHITING, A.; GUTHERY, S. L. *et al.* Variants in TNFAIP3, STAT4, and C12orf30 loci associated with multiple autoimmune diseases are also associated with juvenile idiopathic arthritis. **Arthritis Rheum**, 60, n. 7, p. 2124-2130, Jul 2009.

PREZIOSO, G.; COMEGNA, L.; DI GIULIO, C.; FRANCHINI, S. *et al.* C1858T Polymorphism of Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor Type 22 (PTPN22): an eligible target for prevention of type 1 diabetes? **Expert Rev Clin Immunol**, 13, n. 3, p. 189-196, Mar 2017.

PUAVILAI, G.; CHANPRASERTYOTIN, S.; SRIPHRAPRADAENG, A. Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. World Health Organization. **Diabetes Res Clin Pract**, 44, n. 1, p. 21-26, Apr 1999.

QU, H.; TESSIER, M. C.; HUDSON, T. J.; POLYCHRONAKOS, C. Confirmation of the association of the R620W polymorphism in the protein tyrosine phosphatase PTPN22 with type 1 diabetes in a family based study. **J Med Genet**, 42, n. 3, p. 266-270, Mar 2005.

QUESADA-MASACHS, E.; ZILBERMAN, S.; RAJENDRAN, S.; CHU, T. *et al.* Upregulation of HLA class II in pancreatic beta cells from organ donors with type 1 diabetes. **Diabetologia**, 65, n. 2, p. 387-401, Feb 2022.

RAMAGOPALAN, S. V.; HEGER, A.; BERLANGA, A. J.; MAUGERI, N. J. *et al.* A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. **Genome Res**, 20, n. 10, p. 1352-1360, Oct 2010.

REDONDO, M. J.; EVANS-MOLINA, C.; STECK, A. K.; ATKINSON, M. A. *et al.* The Influence of Type 2 Diabetes-Associated Factors on Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, 42, n. 8, p. 1357-1364, Aug 2019.

REDONDO, M. J.; GEYER, S.; STECK, A. K.; SHARP, S. *et al.* A Type 1 Diabetes Genetic Risk Score Predicts Progression of Islet Autoimmunity and Development of Type 1 Diabetes in Individuals at Risk. **Diabetes Care**, 41, n. 9, p. 1887-1894, Sep 2018.

REDONDO, M. J.; GEYER, S.; STECK, A. K.; SHARP, S. *et al.* A Type 1 Diabetes Genetic Risk Score Predicts Progression of Islet Autoimmunity and Development of Type 1 Diabetes in Individuals at Risk. **Diabetes Care**, 41, n. 9, p. 1887-1894, Sep 2018.

REDONDO, M. J.; GEYER, S.; STECK, A. K.; SOSENKO, J. *et al.* TCF7L2 Genetic Variants Contribute to Phenotypic Heterogeneity of Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, 41, n. 2, p. 311-317, Feb 2018.

REDONDO, M. J.; GIGNOUX, C. R.; DABELEA, D.; HAGOPIAN, W. A. *et al.* Type 1 diabetes in diverse ancestries and the use of genetic risk scores. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 10, n. 8, p. 597-608, Aug 2022.

REDONDO, M. J.; GRANT, S. F.; DAVIS, A.; GREENBAUM, C. *et al.* Dissecting heterogeneity in paediatric Type 1 diabetes: association of TCF7L2 rs7903146 TT and low-risk human leukocyte antigen (HLA) genotypes. **Diabet Med**, 34, n. 2, p. 286-290, Feb 2017.

REDONDO, M. J.; HAGOPIAN, W. A.; ORAM, R.; STECK, A. K. *et al.* The clinical consequences of heterogeneity within and between different diabetes types. **Diabetologia**, 63, n. 10, p. 2040-2048, Oct 2020.

REDONDO, M. J.; LIBMAN, I.; CHENG, P.; KOLLMAN, C. *et al.* Racial/Ethnic Minority Youth With Recent-Onset Type 1 Diabetes Have Poor Prognostic Factors. **Diabetes Care**, 41, n. 5, p. 1017-1024, May 2018.

REDONDO, M. J.; MORGAN, N. G. Heterogeneity and endotypes in type 1 diabetes mellitus. **Nat Rev Endocrinol**, 19, n. 9, p. 542-554, Sep 2023.

REDONDO, M. J.; MUNIZ, J.; RODRIGUEZ, L. M.; IYER, D. *et al.* Association of TCF7L2 variation with single islet autoantibody expression in children with type 1 diabetes. **BMJ Open Diabetes Res Care**, 2, n. 1, p. e000008, 2014.

REDONDO, M. J.; NATHAN, B. M.; JACOBSEN, L. M.; SIMS, E. *et al.* Index60 as an additional diagnostic criterion for type 1 diabetes. **Diabetologia**, 64, n. 4, p. 836-844, Apr 2021.

REDONDO, M. J.; RICHARDSON, S. J.; PERRY, D.; MINARD, C. G. *et al.* Milder loss of insulin-containing islets in individuals with type 1 diabetes and type 2 diabetes-associated TCF7L2 genetic variants. **Diabetologia**, 66, n. 1, p. 127-131, Jan 2023.

REDONDO, M. J.; SOSENKO, J.; LIBMAN, I.; MCVEAN, J. J. F. *et al.* Single Islet Autoantibody at Diagnosis of Clinical Type 1 Diabetes is Associated With Older

Age and Insulin Resistance. **J Clin Endocrinol Metab**, 105, n. 5, p. 1629-1640, May 1 2020.

REDONDO, M. J.; STECK, A. K.; SOSENKO, J.; ANDERSON, M. *et al.* Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene Polymorphism and Progression From Single to Multiple Autoantibody Positivity in Individuals at Risk for Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, 41, n. 12, p. 2480-2486, Dec 2018.

REGNELL, S. E.; LERNMARK, A. Early prediction of autoimmune (type 1) diabetes. **Diabetologia**, 60, n. 8, p. 1370-1381, Aug 2017.

REWERS, A.; DONG, F.; SLOVER, R. H.; KLINGENSMITH, G. J. *et al.* Incidence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes in Colorado youth, 1998-2012. **Jama**, 313, n. 15, p. 1570-1572, Apr 21 2015.

RHEINHEIMER, J.; OLIVEIRA FDOS, S.; CANANI, L. H.; CRISPIM, D. The rs1893217 (T/C) polymorphism in PTPN22 gene is not associated with type 1 diabetes mellitus in subjects from Southern Brazil. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, 58, n. 4, p. 382-388, Jun 2014.

RICHARDSON, S. J.; PUGLIESE, A. 100 YEARS OF INSULIN: Pancreas pathology in type 1 diabetes: an evolving story. **J Endocrinol**, 252, n. 2, p. R41-R57, Dec 9 2021.

RICHARDSON, S. J.; RODRIGUEZ-CALVO, T.; GERLING, I. C.; MATHEWS, C. E. *et al.* Islet cell hyperexpression of HLA class I antigens: a defining feature in type 1 diabetes. **Diabetologia**, 59, n. 11, p. 2448-2458, Nov 2016.

RIOUX, J. D.; ABBAS, A. K. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. **Nature**, 435, n. 7042, p. 584-589, Jun 2 2005.

RODACKI M.; TELES M.; GABBAY M.; MONTENEGRO R. *et al.* Classificação do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). DOI: 10.29327/557753.2022-1.

RODRIGUEZ-CALVO, T.; CHEN, Y. C.; VERCHERE, C. B.; HAATAJA, L. *et al.* Altered beta-Cell Prohormone Processing and Secretion in Type 1 Diabetes. **Diabetes**, 70, n. 5, p. 1038-1050, May 2021.

RODRIGUEZ-CALVO, T.; JOHNSON, J. D.; OVERBERGH, L.; DUNNE, J. L. Neopeptides in Type 1 Diabetes: Etiological Insights, Biomarkers and Therapeutic Targets. **Front Immunol**, 12, p. 667989, 2021.

RODRIGUEZ-CALVO, T.; KROGVOLD, L.; AMIRIAN, N.; DAHL-JORGENSEN, K. *et al.* One in Ten CD8(+) Cells in the Pancreas of Living Individuals With Recent-Onset Type 1 Diabetes Recognizes the Preproinsulin Epitope PPI(15-24). **Diabetes**, 70, n. 3, p. 752-758, Mar 2021.

RODRIGUEZ, B. L.; FUJIMOTO, W. Y.; MAYER-DAVIS, E. J.; IMPERATORE, G. *et al.* Prevalence of cardiovascular disease risk factors in U.S. children and adolescents with diabetes: the SEARCH for diabetes in youth study. **Diabetes Care**, 29, n. 8, p. 1891-1896, Aug 2006.

ROEP, B. O.; THOMAIDOU, S.; VAN TIENHOVEN, R.; ZALDUMBIDE, A. Type 1 diabetes mellitus as a disease of the beta-cell (do not blame the immune system?). **Nat Rev Endocrinol**, 17, n. 3, p. 150-161, Mar 2021.

ROSARIO, P. W.; REIS, J. S.; FAGUNDES, T. A.; CALSOLARI, M. R. *et al.* Latent autoimmune diabetes in adults (LADA): usefulness of anti-GAD antibody titers and benefit of early insulinization. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, 51, n. 1, p. 52-58, Feb 2007.

ROSS, C.; WARD, Z. J.; GOMBER, A.; OWAIS, M. *et al.* The Prevalence of Islet Autoantibodies in Children and Adolescents With Type 1 Diabetes Mellitus: A Global Scoping Review. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 13, p. 815703, 2022.

RUSSELL, M. A.; REDICK, S. D.; BLODGETT, D. M.; RICHARDSON, S. J. *et al.* HLA Class II Antigen Processing and Presentation Pathway Components Demonstrated by Transcriptome and Protein Analyses of Islet beta-Cells From Donors With Type 1 Diabetes. **Diabetes**, 68, n. 5, p. 988-1001, May 2019.

SACCHETTI, C.; BOTTINI, N. Protein Tyrosine Phosphatases in Systemic Sclerosis: Potential Pathogenic Players and Therapeutic Targets. **Curr Rheumatol Rep**, 19, n. 5, p. 28, May 2017.

SAHIN, G. S.; LEE, H.; ENGIN, F. An accomplice more than a mere victim: The impact of beta-cell ER stress on type 1 diabetes pathogenesis. **Mol Metab**, 54, p. 101365, Dec 2021.

SALOMON, D.; MEDA, P. Heterogeneity and contact-dependent regulation of hormone secretion by individual B cells. **Exp Cell Res**, 162, n. 2, p. 507-520, Feb 1986.

SANTAMARIA, P. The long and winding road to understanding and conquering type 1 diabetes. **Immunity**, 32, n. 4, p. 437-445, Apr 23 2010.

SANTIN, I.; MOORE, F.; COLLI, M. L.; GURZOV, E. N. *et al.* PTPN2, a candidate gene for type 1 diabetes, modulates pancreatic beta-cell apoptosis via regulation of the BH3-only protein Bim. **Diabetes**, 60, n. 12, p. 3279-3288, Dec 2011.

SCHWAB, K. O.; DOERFER, J.; HECKER, W.; GRULICH-HENN, J. *et al.* Spectrum and prevalence of atherogenic risk factors in 27,358 children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes: cross-sectional data from the German diabetes documentation and quality management system (DPV). **Diabetes Care**, 29, n. 2, p. 218-225, Feb 2006.

SERRA, P.; SANTAMARIA, P. Antigen-specific therapeutic approaches for autoimmunity. **Nat Biotechnol**, 37, n. 3, p. 238-251, Mar 2019.

SEVILLANO, J.; SANCHEZ-ALONSO, M. G.; PIZARRO-DELGADO, J.; RAMOS-ALVAREZ, M. D. P. Role of Receptor Protein Tyrosine Phosphatases (RPTPs) in Insulin Signaling and Secretion. **Int J Mol Sci**, 22, n. 11, May 28 2021.

SHARP, R. C.; ABDULRAHIM, M.; NASER, E. S.; NASER, S. A. Genetic Variations of PTPN2 and PTPN22: Role in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes and Crohn's Disease. **Front Cell Infect Microbiol**, 5, p. 95, 2015.

SHAW, A. M.; QASEM, A.; NASER, S. A. Modulation of PTPN2/22 Function by Spermidine in CRISPR-Cas9-Edited T-Cells Associated with Crohn's Disease and Rheumatoid Arthritis. **Int J Mol Sci**, 22, n. 16, Aug 18 2021.

SHICHIRI, M.; IWAMOTO, H.; SHIIGAI, T. Diabetic renal hypouricemia. **Arch Intern Med**, 147, n. 2, p. 225-228, Feb 1987. Case Reports.

SHIELDS, B. M.; PETERS, J. L.; COOPER, C.; LOWE, J. *et al.* Can clinical features be used to differentiate type 1 from type 2 diabetes? A systematic review of the literature. **BMJ Open**, 5, n. 11, p. e009088, Nov 2 2015.

SILLER, A. F.; TOSUR, M.; RELAN, S.; ASTUDILLO, M. *et al.* Challenges in the diagnosis of diabetes type in pediatrics. **Pediatr Diabetes**, 21, n. 7, p. 1064-1073, Nov 2020.

SIMS, E. K.; BAHNSON, H. T.; NYALWIDHE, J.; HAATAJA, L. *et al.* Proinsulin Secretion Is a Persistent Feature of Type 1 Diabetes. **Diabetes Care**, 42, n. 2, p. 258-264, Feb 2019.

SIMS, E. K.; MIRMIRA, R. G.; EVANS-MOLINA, C. The role of beta-cell dysfunction in early type 1 diabetes. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**, 27, n. 4, p. 215-224, Aug 2020.

SMITH, R. L.; WARREN, R. B.; EYRE, S.; KE, X. *et al.* Polymorphisms in the PTPN22 region are associated with psoriasis of early onset. **Br J Dermatol**, 158, n. 5, p. 962-968, May 2008.

SMYTH, D.; COOPER, J. D.; COLLINS, J. E.; HEWARD, J. M. *et al.* Replication of an association between the lymphoid tyrosine phosphatase locus (LYP/PTPN22) with type 1 diabetes, and evidence for its role as a general autoimmunity locus. **Diabetes**, 53, n. 11, p. 3020-3023, Nov 2004.

SMYTH, D. J.; COOPER, J. D.; HOWSON, J. M.; WALKER, N. M. *et al.* PTPN22 Trp620 explains the association of chromosome 1p13 with type 1 diabetes and shows a statistical interaction with HLA class II genotypes. **Diabetes**, 57, n. 6, p. 1730-1737, Jun 2008.

SNELL-BERGEON, J. K.; WEST, N. A.; MAYER-DAVIS, E. J.; LIESE, A. D. *et al.* Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study. **J Clin Endocrinol Metab**, 95, n. 6, p. 2868-2876, Jun 2010.

SPALINGER, M. R.; MANZINI, R.; HERING, L.; RIGGS, J. B. *et al.* PTPN2 Regulates Inflammasome Activation and Controls Onset of Intestinal Inflammation and Colon Cancer. **Cell Rep**, 22, n. 7, p. 1835-1848, Feb 13 2018.

SPALINGER, M. R.; SAYOC-BECERRA, A.; ORDOOKHANIAN, C.; CANALE, V. *et al.* The JAK Inhibitor Tofacitinib Rescues Intestinal Barrier Defects Caused by Disrupted Epithelial-macrophage Interactions. **J Crohns Colitis**, 15, n. 3, p. 471-484, Mar 5 2021.

STECK, A. K.; WONG, R.; WAGNER, B.; JOHNSON, K. *et al.* Effects of non-HLA gene polymorphisms on development of islet autoimmunity and type 1 diabetes in a population with high-risk HLA-DR,DQ genotypes. **Diabetes**, 61, n. 3, p. 753-758, Mar 2012.

STORLING, J.; POCIOT, F. Type 1 Diabetes Candidate Genes Linked to Pancreatic Islet Cell Inflammation and Beta-Cell Apoptosis. **Genes (Basel)**, 8, n. 2, Feb 16 2017.

SZABLOWSKI, M.; OKRUSZKO, M. A.; POCHODOWICZ, K.; ABRAMOWICZ, P. *et al.* Coincidence of juvenile idiopathic arthritis and type 1 diabetes: a case-based review. **Rheumatol Int**, 42, n. 2, p. 371-378, Feb 2022.

TAO, L.; LIU, H.; GONG, Y. Role and mechanism of the Th17/Treg cell balance in the development and progression of insulin resistance. **Mol Cell Biochem**, 459, n. 1-2, p. 183-188, Sep 2019.

TAUSCHMANN, M.; HERMANN, J. M.; FREIBERG, C.; PAPSCH, M. *et al.* Reduction in Diabetic Ketoacidosis and Severe Hypoglycemia in Pediatric Type 1 Diabetes During the First Year of Continuous Glucose Monitoring: A Multicenter Analysis of 3,553 Subjects From the DPV Registry. **Diabetes Care**, 43, n. 3, p. e40-e42, Mar 2020.

TAVARES, N. A.; SANTOS, M. M.; MOURA, R.; ARAUJO, J. *et al.* Association of TNF-alpha, CTLA4, and PTPN22 polymorphisms with type 1 diabetes and other autoimmune diseases in Brazil. **Genet Mol Res**, 14, n. 4, p. 18936-18944, Dec 28 2015.

TAYLOR, R. Type 2 diabetes: etiology and reversibility. **Diabetes Care**, 36, n. 4, p. 1047-1055, Apr 2013.

TEN HOEVE, J.; DE JESUS IBARRA-SANCHEZ, M.; FU, Y.; ZHU, W. *et al.* Identification of a nuclear Stat1 protein tyrosine phosphatase. **Mol Cell Biol**, 22, n. 16, p. 5662-5668, Aug 2002.

TERADA, H.; URAKAMI, T.; NAGANO, N.; MINE, Y. *et al.* Difference in the early clinical course between children with type 1 diabetes having a single antibody and those having multiple antibodies against pancreatic beta-cells. **Endocr J**, Jan 24 2023.

THOMAS, H. E.; GRAHAM, K. L.; ANGSTETRA, E.; MCKENZIE, M. D. *et al.* Interferon signalling in pancreatic beta cells. **Front Biosci (Landmark Ed)**, 14, n. 2, p. 644-656, Jan 1 2009.

THOMAS, N. J.; JONES, S. E.; WEEDON, M. N.; SHIELDS, B. M. *et al.* Frequency and phenotype of type 1 diabetes in the first six decades of life: a cross-sectional, genetically stratified survival analysis from UK Biobank. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 6, n. 2, p. 122-129, Feb 2018.

THOMPSON, P. J.; PIPELLA, J.; RUTTER, G. A.; GAISANO, H. Y. *et al.* Islet autoimmunity in human type 1 diabetes: initiation and progression from the perspective of the beta cell. **Diabetologia**, 2023/07/25 2023.

THOMPSON, P. J.; SHAH, A.; NTRANOS, V.; VAN GOOL, F. *et al.* Targeted Elimination of Senescent Beta Cells Prevents Type 1 Diabetes. **Cell Metab**, 29, n. 5, p. 1045-1060 e1010, May 7 2019.

TODD, J. A.; WALKER, N. M.; COOPER, J. D.; SMYTH, D. J. *et al.* Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. **Nat Genet**, 39, n. 7, p. 857-864, Jul 2007.

TORRES, J.; MEHANDRU, S.; COLOMBEL, J. F.; PEYRIN-BIROULET, L. Crohn's disease. **Lancet**, 389, n. 10080, p. 1741-1755, Apr 29 2017.

TOSUR, M.; GEYER, S. M.; RODRIGUEZ, H.; LIBMAN, I. *et al.* Ethnic differences in progression of islet autoimmunity and type 1 diabetes in relatives at risk. **Diabetologia**, 61, n. 9, p. 2043-2053, Sep 2018.

TOSUR, M.; PHILIPSON, L. H. Precision diabetes: Lessons learned from maturity-onset diabetes of the young (MODY). **J Diabetes Investig**, 13, n. 9, p. 1465-1471, Sep 2022.

TOSUR, M.; REDONDO, M. J. Heterogeneity of Type 1 Diabetes: The Effect of Ethnicity. **Curr Diabetes Rev**, 14, n. 3, p. 266-272, 2018.

TRIDGELL, D. M.; SPIEKERMAN, C.; WANG, R. S.; GREENBAUM, C. J. Interaction of onset and duration of diabetes on the percent of GAD and IA-2 antibody-positive subjects in the type 1 diabetes genetics consortium database. **Diabetes Care**, 34, n. 4, p. 988-993, Apr 2011.

TRITOS, N. A.; BILLER, B. M. K. Current concepts of the diagnosis of adult growth hormone deficiency. **Rev Endocr Metab Disord**, 22, n. 1, p. 109-116, Mar 2021.

TSAI, S.; SHAMELI, A.; SANTAMARIA, P. CD8+ T cells in type 1 diabetes. **Adv Immunol**, 100, p. 79-124, 2008.

TSCHIEDEL, E.; MULLER, O.; SCHARA, U.; FELDERHOFF-MUSER, U. *et al.* Sedation monitoring during open muscle biopsy in children by Comfort Score and Bispectral Index - a prospective analysis. **Paediatr Anaesth**, 25, n. 3, p. 265-271, Mar 2015.

TUOMI, T.; GROOP, L. C.; ZIMMET, P. Z.; ROWLEY, M. J. *et al.* Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. **Diabetes**, 42, n. 2, p. 359-362, Feb 1993.

UMESHAPPA, C. S.; MBONGUE, J.; SINGHA, S.; MOHAPATRA, S. *et al.* Ubiquitous antigen-specific T regulatory type 1 cells variably suppress hepatic and extrahepatic autoimmunity. **J Clin Invest**, 130, n. 4, p. 1823-1829, Apr 1 2020.

URAKAMI, T. The Advanced Diabetes Technologies for Reduction of the Frequency of Hypoglycemia and Minimizing the Occurrence of Severe

Hypoglycemia in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. **J Clin Med**, 12, n. 3, Jan 18 2023.

USHER-SMITH, J. A.; THOMPSON, M. J.; ZHU, H.; SHARP, S. J. *et al.* The pathway to diagnosis of type 1 diabetes in children: a questionnaire study. **BMJ Open**, 5, n. 3, p. e006470, Mar 17 2015.

VAN BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; VON HERRATH, M. G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. **Physiol Rev**, 91, n. 1, p. 79-118, Jan 2011.

VAN SCHRAVENDIJK, C. F.; KIEKENS, R.; PIPELEERS, D. G. Pancreatic beta cell heterogeneity in glucose-induced insulin secretion. **J Biol Chem**, 267, n. 30, p. 21344-21348, Oct 25 1992.

VANG, T.; MILETIC, A. V.; ARIMURA, Y.; TAUTZ, L. *et al.* Protein tyrosine phosphatases in autoimmunity. **Annu Rev Immunol**, 26, p. 29-55, 2008.

VEHIK, K.; BONIFACIO, E.; LERNMARK, A.; YU, L. *et al.* Hierarchical Order of Distinct Autoantibody Spreading and Progression to Type 1 Diabetes in the TEDDY Study. **Diabetes Care**, 43, n. 9, p. 2066-2073, Sep 2020.

VEHIK, K.; LYNCH, K. F.; WONG, M. C.; TIAN, X. *et al.* Prospective virome analyses in young children at increased genetic risk for type 1 diabetes. **Nat Med**, 25, n. 12, p. 1865-1872, Dec 2019.

VIIGIMAA, M.; SACHINIDIS, A.; TOUMPOURLEKA, M.; KOUTSAMPASOPOULOS, K. *et al.* Macrovascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. **Curr Vasc Pharmacol**, 18, n. 2, p. 110-116, 2020.

VOZAROVA, B.; STEFAN, N.; LINDSAY, R. S.; SAREMI, A. *et al.* High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. **Diabetes**, 51, n. 6, p. 1889-1895, Jun 2002.

WAGNER, K. R.; MEI, L.; HUGANIR, R. L. Protein tyrosine kinases and phosphatases in the nervous system. **Curr Opin Neurobiol**, 1, n. 1, p. 65-73, Jun 1991.

WAGNER, W.; HRADEC, J.; MANDLIKOVA, Z. Negativity of serological reactions with benzpyrenyl-albumine in the blood of healthy persons and patients with cancer. **Neoplasma**, 16, n. 3, p. 293-295, Jun 1969.

WAN, X.; ZINSELMAYER, B. H.; ZAKHAROV, P. N.; VOMUND, A. N. *et al.* Pancreatic islets communicate with lymphoid tissues via exocytosis of insulin peptides. **Nature**, 560, n. 7716, p. 107-111, Aug 2018.

WANG, S.; DONG, H.; HAN, J.; HO, W. T. *et al.* Identification of a variant form of tyrosine phosphatase LYP. **BMC Molecular Biology**, 11, n. 1, p. 78, 2010/11/02 2010.

WANG, Y.; MORENO, L. A.; CABALLERO, B.; COLE, T. J. Limitations of the current world health organization growth references for children and adolescents. **Food Nutr Bull**, 27, n. 4 Suppl Growth Standard, p. S175-188, Dec 2006.

WANG, Z.; ZHENG, Y.; TU, Y.; DAI, Z. *et al.* Immunological Aspects of Fulminant Type 1 Diabetes in Chinese. **J Immunol Res**, 2016, p. 1858202, 2016.

WARNCKE, K.; WEISS, A.; ACHENBACH, P.; VON DEM BERGE, T. *et al.* Elevations in blood glucose before and after the appearance of islet autoantibodies in children. **J Clin Invest**, 132, n. 20, Oct 17 2022.

WELLCOME TRUST CASE CONTROL, C. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. **Nature**, 447, n. 7145, p. 661-678, Jun 7 2007.

WELSH, C. L.; PANDEY, P.; AHUJA, L. G. Protein Tyrosine Phosphatases: A new paradigm in an old signaling system? **Adv Cancer Res**, 152, p. 263-303, 2021.

WELTER, M.; VOLANSKI, W.; ALBERTON, D.; FRANÇA, S. N. *et al.* Polymorphism rs2476601 in the PTPN22 gene is associated with type 1 diabetes in children from the South Region of Brazil. **Gene**, 650, p. 15-18, 2018/04/15/ 2018.

WIEDE, F.; LU, K. H.; DU, X.; LIANG, S. *et al.* PTPN22 phosphatase deletion in T cells promotes anti-tumour immunity and CAR T-cell efficacy in solid tumours. **EMBO J**, 39, n. 2, p. e103637, Jan 15 2020.

WIEDE, F.; SHIELDS, B. J.; CHEW, S. H.; KYPARISSOUDIS, K. *et al.* T cell protein tyrosine phosphatase attenuates T cell signaling to maintain tolerance in mice. **J Clin Invest**, 121, n. 12, p. 4758-4774, Dec 2011.

WU, H.; BALLANTYNE, C. M. Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. **Circ Res**, 126, n. 11, p. 1549-1564, May 22 2020.

WU, L.; WANG, F.; XU, J.; CHEN, Z. PTPN2 induced by inflammatory response and oxidative stress contributed to glioma progression. **J Cell Biochem**, 120, n. 11, p. 19044-19051, Nov 2019.

YAMAZAKI, D.; HITOMI, H.; NISHIYAMA, A. Hypertension with diabetes mellitus complications. **Hypertens Res**, 41, n. 3, p. 147-156, Mar 2018.

YEH, L. T.; MIAW, S. C.; LIN, M. H.; CHOU, F. C. *et al.* Different modulation of Ptpn22 in effector and regulatory T cells leads to attenuation of autoimmune diabetes in transgenic nonobese diabetic mice. **J Immunol**, 191, n. 2, p. 594-607, Jul 15 2013.

YEO, L.; PUJOL-AUTONELL, I.; BAPTISTA, R.; EICHMANN, M. *et al.* Circulating beta cell-specific CD8(+) T cells restricted by high-risk HLA class I molecules show antigen experience in children with and at risk of type 1 diabetes. **Clin Exp Immunol**, 199, n. 3, p. 263-277, Mar 2020.

YOSTEN, G. L. C. Alpha cell dysfunction in type 1 diabetes. **Peptides**, 100, p. 54-60, Feb 2018.

ZENEWICZ, L. A.; ABRAHAM, C.; FLAVELL, R. A.; CHO, J. H. Unraveling the genetics of autoimmunity. **Cell**, 140, n. 6, p. 791-797, Mar 19 2010.

ZHANG, Z. Y.; ZHOU, B.; XIE, L. Modulation of protein kinase signaling by protein phosphatases and inhibitors. **Pharmacol Ther**, 93, n. 2-3, p. 307-317, Feb-Mar 2002.

ZHENG, P.; KISSLER, S. PTPN22 silencing in the NOD model indicates the type 1 diabetes-associated allele is not a loss-of-function variant. **Diabetes**, 62, n. 3, p. 896-904, Mar 2013.

ZHENG, W.; SHE, J. X. Genetic association between a lymphoid tyrosine phosphatase (PTPN22) and type 1 diabetes. **Diabetes**, 54, n. 3, p. 906-908, Mar 2005.

ZIEGLER, A. G.; BONIFACIO, E.; GROUP, B.-B. S. Age-related islet autoantibody incidence in offspring of patients with type 1 diabetes. **Diabetologia**, 55, n. 7, p. 1937-1943, Jul 2012.

ZIEGLER, A. G.; REWERS, M.; SIMELL, O.; SIMELL, T. *et al.* Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. **JAMA**, 309, n. 23, p. 2473-2479, Jun 19 2013.

ZIKHERMAN, J.; HERMISTON, M.; STEINER, D.; HASEGAWA, K. *et al.* PTPN22 deficiency cooperates with the CD45 E613R allele to break tolerance on a non-autoimmune background. **J Immunol**, 182, n. 7, p. 4093-4106, Apr 1 2009.

ZOLEDZIEWSKA, M.; PERRA, C.; ORRU, V.; MOI, L. *et al.* Further evidence of a primary, causal association of the PTPN22 620W variant with type 1 diabetes. **Diabetes**, 57, n. 1, p. 229-234, Jan 2008.

ANEXO 1 – PARECER DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES LABORATORIAIS E MOLECULARES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES SAUDÁVEIS E PORTADORAS DE DIABETES

Pesquisador: Fabiane Gomes de Moraes Rego

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 24676613.6.0000.0102

Instituição Proponente: Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Patrocinador Principal: Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 655.477

Data da Relatoria: 21/05/2014

Apresentação do Projeto:

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES LABORATORIAIS E MOLECULARES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES SAUDÁVEIS E PORTADORAS DE DIABETES

Autora: Dra Fabiane Gomes de Moraes Rego. **Equipe da Pesquisa:** Aline Borsato Hauser

Geraldo Picheth, Letícia Carneiro Gomes, Railson Henneberg, SUZANA NESI FRANÇA.

Objetivo da Pesquisa:

Dosar os biomarcadores de controle glicêmico com ênfase no 1,5 anidroglicitol e albumina glicada, perfil lipídico, função renal, função hepática, função hematológica, metabolismo do cálcio e vitamina D e anticorpos relacionados ao desenvolvimento do diabetes em crianças e adolescentes de escolas Estaduais de Curitiba e pacientes diabéticos e seus familiares atendidos pelo Hospital de Clínicas da UFPR.

Determinar as frequências genotípicas e alélicas de polimorfismos genéticos relacionados ao diabetes e suas complicações. Associar as variações genéticas estudadas com os biomarcadores em estudo, com ênfase nos associados ao controle glicêmico e no perfil lipídico. Buscar novos biomarcadores laboratoriais ou moleculares para o diagnóstico precoce do diabetes em crianças e adolescentes.

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto em questão prevê riscos para os pacientes como algum desconforto inerente à punção venosa, bem como riscos associados a coleta da amostra de sangue como hematomas e irritações locais e o desconforto em coletar os dados antropométricos das crianças e adolescentes que serão o grupo controle. Para os pesquisadores, não haverá riscos visto que os procedimentos analíticos a serem empregados são de domínio dos mesmos. Os procedimentos técnicos que serão empregados estão bem estabelecidos na literatura e não há relatos de riscos bem como dano ao meio ambiente. Há descrição de que os materiais utilizados no projeto serão armazenados, lavados e/ou descartados seguindo as normas vigentes de biossegurança e proteção ao meio ambiente. O projeto apresenta benefícios que permitirão a avaliação da utilização de biomarcadores que não estão contemplados na rotina laboratorial, permitindo novas perspectivas de acurácia no diagnóstico, monitoramento e conhecimento das características do diabetes no Brasil, beneficiando os afetados pela patologia, os profissionais de saúde envolvidos no processo de tratamento e o sistema público de saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta cunho relevante haja visto que o diabetes é uma patologia que afeta 8% da população e principalmente o controle glicêmico é difícil principalmente em crianças e adolescentes. A assertiva de que é necessário estudar e avaliar múltiplos e diferentes marcadores em conjunto para a extração de elementos representativos que possam ser utilizados como biomarcadores de risco e ou proteção associados ao diabetes são o ponto central desta pesquisa. Portanto, novos biomarcadores proteicos e genômicos, associados a marcadores clássicos do diabetes como glicemia de jejum, glicemia pós-prandial, 1,5 anidroglicitol (1,5AG), albumina glicada (AG), insulina e hemoglobina glicada, são elementos centrais nessa pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos exigidos por este CEP foram anexados. anexada a declaração final modelo CONEP, onde o Coparticipante declara ter lido e concordar com o Parecer deste CEP/SD, lembrando que a Resolução em vigor é a 466/2012/CNS, em substituição a 196/96/CNS.

Recomendações:

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento,

Endereço: Rua Padre Camargo, 280
Bairro: 2º andar

CEP: 80.060-240

UF: PR Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 655.477

encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS)

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa, tanto o participante como o pesquisador deverão rubricar todas as páginas do TCLE, opondo assinaturas na última página do referido Termo (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS).

CURITIBA, 21 de Maio de 2014

Assinado por:
IDA CRISTINA GUBERT
(Coordenador)

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO 2 – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DE DIABÉTICOS ACIMA DE 12 ANOS E MENORES DE 18 ANOS

TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO

Adolescentes maiores de 12 anos e menores de 18 anos

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES LABORATORIAIS E MOLECULARES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES SAUDÁVEIS E PORTADORAS DE DIABETES MELLITUS

Responsável: Fabiane Gomes de Moraes Rego (orientador)

Local da Pesquisa: Laboratório de Bioquímica Clínica da Universidade Federal do Paraná.

Endereço: Rua Prefeito Lothário Meissner, 632 – Campus Jardim Botânico, Curitiba – PR

O que significa assentimento?

O assentimento significa que você concorda em fazer parte de um grupo de adolescentes, da sua faixa de idade (entre 12 e 18 anos), para participar de uma pesquisa. Serão respeitados seus direitos e você receberá todas as informações por mais simples que possam parecer.

Pode ser que este documento denominado TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO contenha palavras que você não entenda. Por favor, peça ao responsável pela pesquisa ou à equipe do estudo para explicar qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

Informação ao Paciente:

O objetivo desta pesquisa é estudar o perfil bioquímico e molecular de adolescentes das escolas de Curitiba visando uma melhor compreensão de doenças que possam afetar estes. Pesquisas como esta podem ajudar no desenvolvimento de novas metodologias de diagnóstico e tratamento.

Caso você participe da pesquisa, os dados pessoais biométricos (como idade, peso, altura) serão necessários. Além disso, será necessário coletar uma amostra do sangue sua.

O sangue será coletado durante a visita na sua escola pela nossa equipe de pesquisadores, com necessidade de coleta específica para a pesquisa.

É possível que você experimente algum desconforto, principalmente relacionado à agulhada da coleta de sangue.

Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser: dor e aparecimento de pequenos hematomas no local da coleta de sangue, que desaparecerão com o tempo.

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB nº 655477
na data de 24/05/2014

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE _____

Os benefícios esperados com essa pesquisa são: 1) melhor conhecimento do perfil bioquímico e molecular dos adolescentes 2) a expectativa do desenvolvimento de novos ensaios laboratoriais que permitam um melhor diagnóstico e tratamento de doenças ligadas a adolescentes. No entanto, nem sempre ele será diretamente beneficiado com o resultado da pesquisa, mas poderá contribuir para o avanço científico.

Caso você autorize, seu sangue será armazenado corretamente e poderá ser utilizado em outras pesquisas semelhantes a esta, que buscam aumentar o conhecimento sobre doenças e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Toda nova pesquisa a ser feita com o seu material armazenado, será submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa, e a cada nova pesquisa, o sujeito será contatado para consentir novo uso de sua amostra, o qual será formalizado através de um TCLE específico.

Sua amostra de sangue será armazenada por até 10 anos, mas poderá ser descartada devido à inadequação da amostra por critérios de qualidade. Neste caso, a amostra será colocada em recipientes apropriados e será descartada seguindo normas bem definidas, sem causar riscos a saúde de ninguém, tampouco ao meio ambiente.

A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito através de códigos, para que a sua identidade seja preservada e seja mantida a confidencialidade.

As despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames laboratoriais) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que problemas como: hematomas e dor no local da punção para coleta do sangue decorrentes do estudo serão tratados pela própria equipe de pesquisadores

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Contato para dúvidas

Se você ou os responsáveis por você tiver(em) dúvidas com relação ao estudo, direitos do participante, ou no caso de riscos relacionados ao estudo, você deve contatar o(a) Investigador(a) do estudo ou membro de sua equipe. Os pesquisadores responsáveis por este estudo são: Fabiane Gomes de Moraes Rego (rego@ufpr.br), Geraldo Picheth (geraldopicheth@ufpr.br) e Aline Borsato Hauser (alinehauser@ufpr.br); farmacêuticos, poderão ser contatados

Rubricas:
Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____
Pesquisador Responsável ou quem aplicou o
TCLE _____

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Setor de Ciências da
Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB nº 655477
na data de 21/05/2014

de segunda a sexta-feira, das 14 às 18h, no Laboratório de Bioquímica Clínica da Universidade Federal do Paraná, sito à Rua Prefeito Lothário Meissner, 632 – Jardim Botânico, Curitiba – PR, ou pelo telefone (41) 3360-4068, para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone 3360-7251. O CEP é constituído por um grupo de profissionais de diversas áreas, com conhecimentos científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada da pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

DECLARAÇÃO DE ASSENTIMENTO DO PACIENTE:

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que posso interromper a minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito.

Eu entendi a informação apresentada neste TERMO DE ASSENTIMENTO. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento DE ASSENTIMENTO INFORMADO.

NOME DO ADOLESCENTE	ASSINATURA	DATA
---------------------	------------	------

NOME DO INVESTIGADOR	ASSINATURA	DATA
----------------------	------------	------

Comitê de ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Rua Pc. Camargo, 280 – 2º andar – Alto da Glória – Curitiba-PR – CEP:80060-240
Tel (41)3360-7259 - e-mail: cometica.saude@ufpr.br

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Setor de Ciências da
Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB.nº 655477
na data de 21/05/2014

ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

DE COLETA DE DADOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Fabiane Gomes de Moraes Rego, Dr Suzana Nesi França e Geraldo Picheth, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando o seu filho menor de idade, a participar de um estudo intitulado "AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES LABORATORIAIS E MOLECULARES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES SAUDÁVEIS E PORTADORAS DE *DIABETES MELLITUS*", que vai avaliar o perfil bioquímico e molecular do seu filho. É através de pesquisas como esta que ocorrem os avanços na medicina e sua participação é de fundamental importância.

- a) O objetivo desta pesquisa é estudar os aspectos genéticos envolvidos com o diabetes para uma melhor compreensão desta doença. Pesquisas como esta podem ajudar no desenvolvimento de novas metodologias de diagnóstico e tratamento.
- b) Caso você autorize a participação de seu filho na pesquisa, os dados pessoais biométricos (como idade, peso, altura) serão necessários. Além disso, será necessário coletar uma amostra do sangue dele.
- c) O sangue do seu filho será coletado durante a consulta de rotina do irmão (diabético tipo 1) pela equipe de coletadores do Serviço de Endocrinologia Pediátrica e Adolescência do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, com a necessidade de coleta específica para a pesquisa.
- d) É possível que ele experimente algum desconforto, principalmente relacionado à agulhada da coleta de sangue.
- e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser: dor e aparecimento de pequenos hematomas no local da coleta de sangue, que serão totalmente avaliados e se necessário tratados sob a responsabilidade da equipe de coletadores do Hospital de Clínicas ou pela Dr Suzana Nesi França.
- f) Os benefícios esperados com essa pesquisa são: 1) melhor conhecimento do perfil bioquímico e molecular dos adolescentes 2) a expectativa do desenvolvimento de novos ensaios laboratoriais que permitam um melhor diagnóstico e tratamento de doenças ligadas a adolescentes. No entanto, nem sempre ele será diretamente beneficiado com o resultado da pesquisa, mas poderá contribuir para o avanço científico.
- g) Caso você autorize, o sangue de seu filho menor de idade será armazenado corretamente e poderá ser utilizado em outras pesquisas semelhantes a esta, que buscam aumentar o conhecimento sobre doenças e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Toda nova pesquisa a ser feita com o material dele armazenado, será submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa, e a cada nova pesquisa, o sujeito será contatado para consentir novo uso de sua amostra, o qual será formalizado através de um TCLE específico.
- h) A amostra de sangue de seu filho menor de idade será armazenada por até 10 anos, mas poderá ser descartada devido à inadequação da amostra por critérios de qualidade. Neste caso, a amostra será colocada em recipientes apropriados e será descartada seguindo normas bem definidas, sem causar riscos a saúde de ninguém, tampouco ao meio ambiente.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

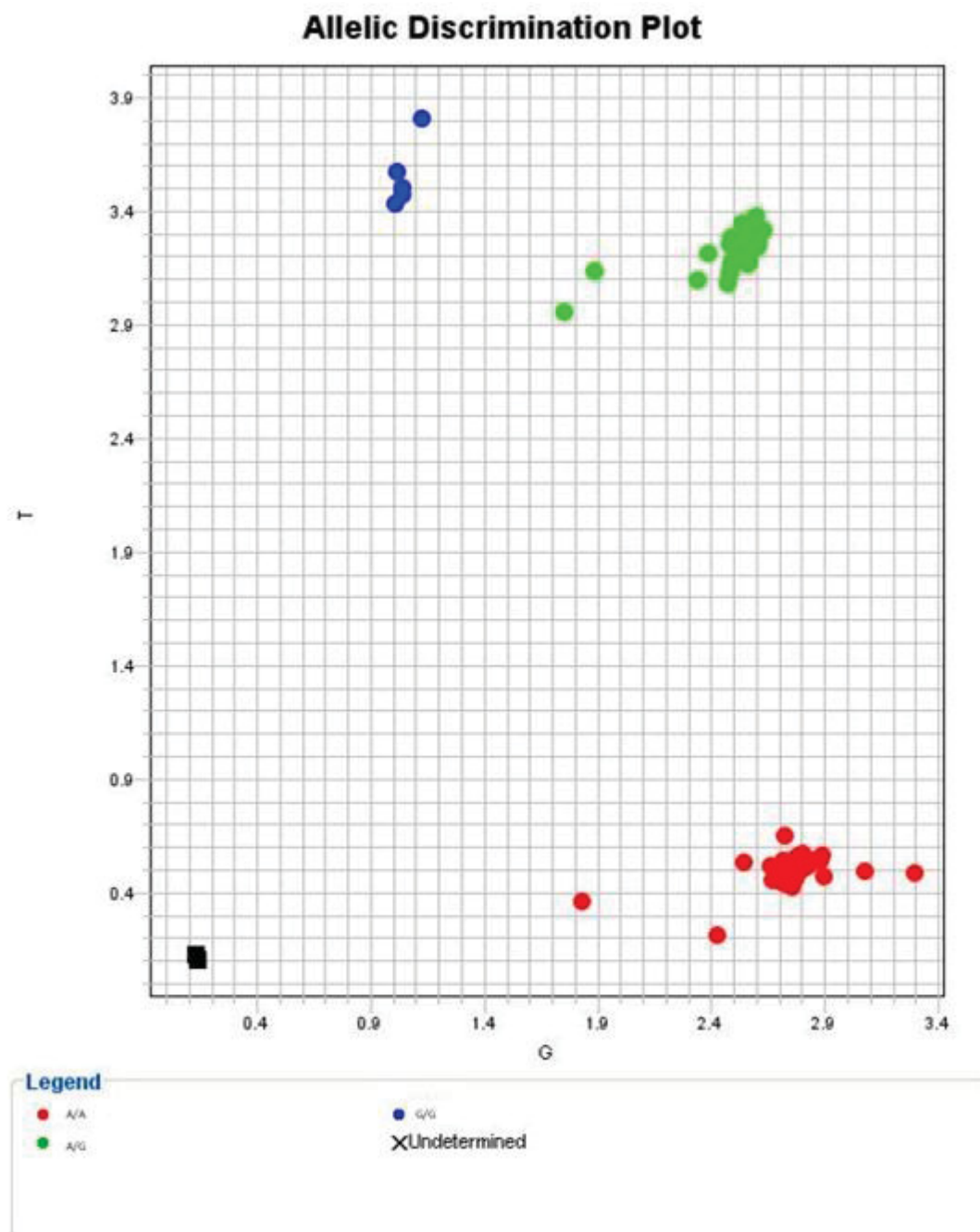
COLETA DE DADOS

Paciente nº _____

Registro HC: _____

1. Nome: _____
2. Data de nascimento: _____
3. Paciente () Parente () Parentesco: _____
4. Sexo Masculino () Feminino ()
5. Púbere () Pré Púbere () Tanner _____
6. CAD no diagnóstico Sim () Não ()
7. CAD no último ano Sim () Não ()
8. Consanguinidade Sim () Não ()
9. Idade de diagnóstico (meses ou anos) _____
10. Tempo de diabetes (meses) _____
11. Peso (kg) _____
12. Peso (DP) _____
13. Estatura (cm) _____
14. Estatura (DP) _____
15. IMC (kg/m²) _____
16. IMC (DP) _____
17. Tipo de insulina: Análogo Sim () Não ()
18. Necessidade de insulina (U/kg/dia) _____
19. Tempo de tratamento com insulina:
() Não tratado com insulina, () tratado com até 6 meses depois diagnóstico, () tratado mais de 6 meses depois do diagnóstico
20. Comorbidades : () Doença tireoideana, () Doença celíaca, Outros () Qual _____
21. História familiar de Diabetes Sim (), (...) pais ou () avós, Não ()
22. História familiar de doença cardiovascular Sim () Não ()
23. Tipo de Pele Fitzpatrick I&II () II&III () IV&V ()
24. Etnia: () Euro-brasileiro, (...) Afro-brasileiro, () Oriental, () Outro
25. Média índice UV nos últimos 35 dias _____
26. Uso de fotoproteção _____
27. Uso de suplemento vitamínico Sim () Não () Qual? _____

ANEXO 4 – GRÁFICO DE AMPLIFICAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA O POLIMORFISMO rs1893217



ANEXO 5 – GRÁFICO DE AMPLIFICAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA O POLIMORFISMO rs6679677

Allelic Discrimination Plot

