

1 2 9 0



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Carla Maria Belo Mourato

**INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA
DA DOENÇA TIROIDEIA AUTOIMUNE NA DIABETES
MELLITUS TIPO I**

Dissertação no âmbito do Mestrado na área científica de Gestão e Economia da Saúde orientada pela Professora Doutora Ilda Massano apresentada ao Departamento de Economia, da Faculdade de Economia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2020

Faculdade de Economia
da Universidade de Coimbra

Incidência e Prevalência da Doença Tiroideia Autoimune na Diabetes Mellitus Tipo I

Carla Maria Belo Mourato

Dissertação de Mestrado na área científica de Gestão e Economia da Saúde orientada pela Professora Doutora Ilda Massano apresentada ao Departamento de Economia, da Faculdade de Economia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2020

1 2  9 0

UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Ilda Massano pelos seus ensinamentos, pelo seu incentivo, pela sua disponibilidade, dedicação, empenho, paciência e compromisso.

À Dra. Alice Mirante, minha coorientadora, pelo seu papel fundamental na elaboração deste trabalho, pelo seu profissionalismo, pela sua generosidade e disponibilidade. A todos os pediatras que integram o Serviço de Pediatria Ambulatória - Unidade de Endocrinologia Pediátrica de diabetes e crescimento, pelo seu profissionalismo e colaboração na realização deste trabalho.

À Dra. Henriqueta Pereira, pelo seu profissionalismo, pelo seu empenho, pela sua persistência e pelo seu papel relevante na aquisição dos reagentes à Euroimmun, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho. Foi igualmente determinante na elaboração do perfil para a requisição das análises. Não posso deixar de agradecer ainda a sua paciência e generosidade. A todos os profissionais do laboratório do hospital pediátrico de Coimbra, pelo profissionalismo, empenho e dedicação na realização da parte laboratorial.

À Euroimmun, nomeadamente à Dra. Ana Rita Pinho pelo esforço e colaboração na aquisição dos reagentes.

À ASIC pela sua colaboração e disponibilidade na aquisição e recolha dos reagentes.

A todos agradeço pela ajuda, pela presença constante, pelo exemplo de dedicação e solidariedade que demonstraram ao longo desta etapa.

A todos os pacientes e voluntários que consentiram em colaborar com este trabalho.

Aos meus pais, António Mourato e Maria Joaquina Mourato, pelo amor e incentivo constantes.

Ao António, meu marido, pelo incentivo, pelo apoio constante, pela compreensão, companheirismo e amor.

Aos meus filhos pelo amor, pela compreensão e incentivo.

Aos amigos queridos pelo incentivo e apoio.

Aos meus colegas pelo apoio.

RESUMO

Introdução: A Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DMT1) é uma doença crónica provocada pela redução da secreção de insulina endógena, resultante da destruição autoimune das células β , dos ilhéus de Langerhans, que a produzem. A DMT1 encontra-se frequentemente associada a outras doenças autoimunes (DAI), entre as quais a Tireoideia Autoimune (DTA).

Objetivos: Avaliar a incidência de DTA em 2019 e a sua prevalência entre 2002 e 2018, nos doentes com DMT1 seguidos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica de Diabetes e Crescimento, do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC).

Métodos: Realizou-se um estudo observacional analítico retrospectivo para identificar os doentes portadores de DMT1, na Consulta de Diabetologia Pediátrica do CHUC, com monitorização dos marcadores de DTA, através da informação disponibilizada no processo clínico eletrónico.

Obtivemos dados sociodemográficos e de natureza clínica. Destacam-se a data de diagnóstico da DMT1 e da DTA, índice de massa corporal (IMC), glicemia média dos últimos 14 dias, hemoglobina glicada (HbA1c), doseamento das hormonas tiroideias, anticorpos anti-pancreáticos, anti-insulina e anti-tiroideus, entre o período de 2002 e 2019. Obtivemos ainda valores séricos do anticorpo AZnT8, que ainda não consta do protocolo de análises de rotina em Portugal.

Identificámos a prevalência de DTA entre o período de 2002 e 2018 e a incidência da mesma em 2019.

Resultados: Dos 262 doentes inicialmente previstos, 21 foram excluídos, por dados incompletos, sendo que a nossa amostra foi constituída por 241 crianças e jovens com DMT1.

A prevalência de DTA, no período de 2002 a 2018, é 21,12% e a incidência em 2019 é 4,17%. Comparando a DMT1 com e sem DTA, a média da idade atual é significativamente superior no grupo que desenvolveu DTA ($p < 0,03$), são crianças mais altas ($p < 0,001$) e com um maior IMC ($p < 0,001$). Verificaram-se ainda diferenças significativas nos níveis séricos de TSH ($p < 0,001$), na idade das crianças no momento do diagnóstico da DTA e da DMT1 ($p < 0,001$), sendo o tempo de duração da DTA menor em relação ao da DMT1 ($p < 0,001$).

Discussão e Conclusão: Neste estudo a prevalência de DTA na DMT1 foi de 21,12%, mais elevada do que na população em geral. A incidência em 2019 foi de 4,17%.

A Tireoidite Hashimoto (TH) é a DTA mais frequentemente associada à DMT1, como constatamos, o que justifica a realização de um rastreio anual de anticorpos anti-tiroideus. Serão necessários um maior número de resultados, para se ponderar o interesse clínico da inclusão do anticorpo anti ZnT8 nas análises de rotina.

Palavras-chave: Diabetes *Mellitus* Tipo 1, etiopatogénese, doenças autoimunes, tireoidite autoimune, síndromes poliglandulares endócrinas.

ABSTRACT

Introduction: Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is a chronic disease that results from a lack of endogenous insulin secretion from the pancreatic cells. Those β - cells are destroyed by a targeted autoimmune process. Type 1 diabetes mellitus is a heterogeneous disease with multiple different features and phenotypic characteristics. Potential triggers of the autoimmune process include genetic and environmental factors. T1DM is associated with other autoimmune diseases, being the most frequent ones the autoimmune thyroid disease.

Aim: Evaluate the incidence in 2019 and the prevalence of thyroid disease in patients with T1DM treated at the ambulatory of endocrinology at the Pediatric University Hospital of Coimbra, from 2002 to 2018, was also evaluated.

Methods: A retrospective analytical observational study was conducted in order to identify T1DM patients with annual monitoring ATD markers. The medical records of 241 patients with T1DM were reviewed and the collected data on age, weight, height, gender, diagnostic age, disease's time, thyroid function, antithyroid antibodies, glycosylated hemoglobin, glycemia media of 14 days, Islet cell (ICA), endogenous insulin (IAA), 65 decarboxylase of glutamic acid (GADA), tyrosine phosphatase like (IA2A) and ZnT8 antibody. ZnT8 antibody was evaluated for the first time in these children. The Statistical Package for the Social Science software (SPSS, v. 24) was used to analyze the data.

Results and Discussion: Our sample has 262 children, with 21 excluded for incomplete data, leading to 241 patients evaluated (N = 241).

The ATD prevalence is 21,12% during the period of 2002-2018. The incidence in 2019 is 4,17%.

Children with T1DM and ATD are older than children with only T1DM $p < 0,03$, consequently they have a significant higher $p < 0,001$, a higher IMC $p < 0,001$ and a higher TSH serum levels $p < 0,0001$. There are also significant differences between the two groups concerning children's age at diagnoses and time of diagnoses. The children are older at the time of ATD diagnoses $p < 0,0001$.

The most frequent form of ATD is Hashimoto's thyroiditis in 50,9% of the children on our samples.

Conclusions: ATD prevalence in T1DM between 2002-2018 was 21,12%, higher than in general population and like the literature. ATD incidence has annual increases in many countries, whereby is important to perform national studies to evaluate Portugal's ATD incidence and compare it with other countries.

ATD is the most common autoimmune disease associated with T1DM, which is why it's important and recommended to make annual screenings.

Keys words: T1DM, Etiopathogenesis review, Syndrome Polyglandular, ATD, autoimmune diseases

ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
Anti-TG	Anticorpo Anti-Tiroglobulina
Anti-TPO/ATPO	Anticorpo Anti Peroxidase Tiroideia
AP	Anemia Perniciosa
APCS	Células apresentadoras de Antigenes
APCA	Anticorpo anti células parietais gástricas
AR	Artrite reumatoide
ATG	Anticorpo anti tiroglobulina
AZnT8	Anticorpo anti transportador de Zinco T8
CHUC	Centro Hospitalar Universitário de Coimbra
CTLA4	Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein
DAI	Doença autoimune
DC	Doença celíaca
DGS	Direção Geral de Saúde
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus tipo 1
DMT2	Diabetes Mellitus tipo 2
DTA	Doença tiroideia autoimune
GA	Gastrite atrófica
GADA	Anticorpo anti descarboxilase do ácido Glutâmico
HBA1c	Hemoglobina glicada
HLA	Human leukocyte antigen (Antígenos de leucócitos humanos)
IAA	Anticorpo anti-insulina
IA2A	Anticorpo anti proteína tirosina fosfatase-like
ICA	Anticorpo anti-ilhéus pancreáticos
IDDM	Diabetes Mellitus insulín dependente
IDDM18	Diabetes Mellitus insulín dependente 18
IMC	Índice de massa corporal
INSEF	Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico
MHC	Complexo major histocompatibilidade
RNA	Ácido ribonucleico
SPA	Síndrome poliglandular autoimune
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TH	Tiroidite de Hashimoto
TNF	Fator de necrose tumoral
TRABS	Anticorpo receptor da TSH
TSH	Hormona estimulante da Tiroide
WHO	World Health Organization

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
ABREVIATURAS	vii
ÍNDICE GERAL	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
1. DIABETES MELLITUS TIPO I.....	5
1.1. EPIDEMIOLOGIA.....	8
1.2. FATORES AMBIENTAIS.....	10
1.3. FATORES GENÉTICOS.....	14
1.3.1. COMPLEXO DE HISTOCOMPATIBILIDADE MAIOR (MHC).....	14
1.4. PATOGENESE DA AUTOIMUNIDADE	16
1.5. FATORES ASSOCIADOS ÀS CÉLULAS β	20
1.6. ABORDAGEM DA DIABETES TIPO 1.....	22
2. SINDROMES POLIGLANDULARES AUTOIMUNES (SPAS).....	25
2.1. SPA TIPO I.....	26
2.2. SPA TIPO II	27
2.3. SPA III.....	27
2.4. SPA IV	28
3. DOENÇA TIROIDEIA AUTOIMUNE.....	29
3.1. EPIDEMIOLOGIA.....	31
3.2. GENÉTICA.....	32
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1. SELEÇÃO DA AMOSTRA	33
4.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	33
4.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	34
4.4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS SOBRE A INVESTIGAÇÃO.....	34
4.5. DESCRIÇÃO DOS INSTRUMENTOS	34
4.6. METODOLOGIA/PROCEDIMENTOS.....	35
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5. RESULTADOS.....	37

6. DISCUSSÃO.....	47
7. CONCLUSÃO.....	51
7.1 LIMITAÇÕES À INVESTIGAÇÃO	51
8. PERSPETIVAS FUTURAS	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Desafios ao Modelo de Eisenbarth sobre a história natural da Diabetes mellitus tipo 1:.....	6
Figura 2- A crescente contribuição dos fatores ambientais no desenvolvimento da DMT1 no início do século XX e início do século XXI.....	10
Figura 3- Estrutura génica do MHC humano.....	15
Figura 4- Imunopatogenese da DMT1.....	18
Figura 5- História natural da diabetes tipo1.....	21

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Estádios da DMT1	7
Tabela 2- Classificação da SPA tipo III.....	26
Tabela 3- Caracterização da amostra por género	37
Tabela 4- Estatística descritiva das variáveis em estudo.....	37
Tabela 5- Grau de positividade para os anticorpos antipancreáticos de LANGERHANS	38
Tabela 6- Estatística descritiva do número de anticorpos antipancreáticos e anti-insulina.....	39
Tabela 7- Número de anticorpos positivos	39
Tabela 8- Estatística Descritiva do Tempo de duração da DMT1 e idade da criança no diagnóstico... 39	
Tabela 9 – Frequência de DTA na amostra.....	40
Tabela 10- Associação entre DTA e Género.....	40
Tabela 11 – Comparação das médias das variáveis em função de diagnóstico de DTA vs Não DTA . 41	
Tabela 12 –Análise descritiva das variáveis “tempo de duração da doença” e “idade da criança no momento do diagnóstico”	42
Tabela 13 – Correlação entre o tempo de diagnóstico de DMT1 e DTA.....	42
Tabela 14 – Correlação entre a idade de diagnóstico de DMT1 e DT.....	42
Tabela 15 - Tipo de patologia tiroideia.....	43
Tabela 16- Correlação entre os anticorpos GADA, Langerhans, IA2A, IAA, ATPO e o nº de anticorpos	43
Tabela 17- Caracterização da amostra por género	44
Tabela 18- Distribuição do género em função da positividade do anticorpoZnT8.....	44
Tabela 19- Estatística Descritiva da amostra	45
Tabela 20- Estatística Descritiva relativamente aos anticorpos	45
Tabela 21- Associação entre a positividade para o anticorpo ZnT8 e a presença de DTA	45

INTRODUÇÃO

A Diabetes *Mellitus* (DM) é uma doença crónica complexa, que para além do controlo glicémico, exige estratégias multifatoriais para redução de riscos associados à patologia. A educação do doente, o suporte e autocontrolo são determinantes para a profilaxia de complicações agudas e redução dos riscos das complicações mais tardias (ADA, 2018b).

Segundo a World Health Organization (WHO, 2020) existem atualmente cerca de 422 milhões de pessoas diabéticas em todo o mundo. Já em 2015 estimou-se a existência de 415 milhões de pessoas com diabetes com previsões de que em 2040 esse valor subirá para os 642 milhões. O número de pessoas com Diabetes Tipo 2 (DMT2) está a aumentar globalmente, com estimativas de que existam cerca de 192 milhões de pessoas com DM que desconhecem que são portadoras da doença. A DM foi responsável por 12% dos gastos em saúde em 2015, tendo sido responsável por 5 milhões de mortes no mesmo ano, sendo que, a cada seis segundos, morre uma pessoa devido à DM. Cerca de 542 mil crianças e jovens têm Diabetes *Mellitus* Tipo 1 (DMT1) e um em cada sete nascimentos foram afetados, durante o período de gravidez, por hiperglicemia materna (Observatório da Diabetes, 2016).

Em 2015, a prevalência estimada da Diabetes na população portuguesa com idades compreendidas entre os 20 e os 79 anos (7,7 milhões de indivíduos), foi de 13,3%, isto é, mais de 1 milhão de portugueses neste grupo etário tem Diabetes (Observatório da Diabetes, 2017). Os resultados do Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF) (Barreto, Marta; Gaio, Irina Kislava; Antunes, 2016) indicaram que a prevalência da diabetes na população residente em Portugal, com idades entre os 25 e 74 anos, foi de 9,8%, sendo esta superior à média europeia de 9,1% (Barreto, Marta; Gaio, Irina Kislava; Antunes, 2016). A letalidade intra-hospitalar nas pessoas com DM é, na maior parte dos casos, significativamente superior aos valores globais identificados para cada um dos capítulos da ICD 9 (Quadro XII*) (Observatório da Diabetes, 2017).

A diabetes tem um contributo significativo nas causas de morte, sendo atualmente responsável por mais de 4% das mortes ocorridas em 2015, ou seja, por ano morrem cerca de 4406 pessoas devido a esta doença (Observatório da Diabetes, 2016). A DM constitui assim, um grave problema de saúde pública, não só pelo aumento da sua incidência, como também pela sua elevada morbilidade e mortalidade.

A DM é uma doença metabólica crónica caracterizada pela hiperglicémia devida à produção insuficiente de insulina ou à incapacidade de a utilizar ou ainda pela conjugação de ambas (DGS, Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2009).

Segundo a *American Diabetes Association* (ADA) (ADA, 2019) e a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2020), a DM classifica-se em quatro categorias:

I. Tipo 1: Caracterizada pela destruição de células β do pâncreas por um processo autoimune, com presença de GADA (anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico), contra as células dos ilhéus ou contra a insulina.

II. Tipo 2: Caracterizada pela utilização ineficaz de insulina por parte do organismo. Corresponde a 90% dos casos de DM em todo o mundo. A DM2 encontra-se em grande parte associada a excesso de peso e sedentarismo.

III. Diabetes gestacional: DM diagnosticada durante a gravidez.

IV. Outros: Defeitos genéticos da função das células β ou da ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino (ex. fibrose quística) ou secundária a fármaco.

A classificação da doença é importante para a prescrição terapêutica, embora alguns doentes, no momento do diagnóstico, não possam ser claramente classificados em tipo 1 ou tipo 2. O paradigma tradicional que a DM2 ocorre só nos adultos e a DM1 ocorre só nas crianças já não se aplica, ambas as doenças podem ocorrer em ambos os grupos etários.

A DM1 subdivide-se em DM1-A-imunomediada que se define pela presença de um ou mais marcadores autoimunes e a DM1-B-idiopática, sem carácter autoimune sendo este tipo muito mais raro. A classificação do tipo de diabetes em causa é importante, pois permite orientar o tratamento do doente, apesar desta classificação ser pouco utilizada e nem sempre evidente (ADA, 2018b). A DM1 é uma doença que se caracteriza pela destruição das células β de Langerhans, com a consequente redução ou mesmo ausência da produção de insulina, hormona importante no metabolismo dos carboidratos, lípidos e

proteínas, surgindo assim a hiperglicemia, com complicações macro e microvasculares tardias. Este mecanismo de destruição das células β é imunomediado, sendo ainda desconhecido o seu fator desencadeante. As primeiras evidências da natureza autoimune foi a associação da DMT1 com outras doenças autoimunes como a Tireoidite de Hashimoto (TH), a Doença de Graves, a Adrenalite, Anemia Perniciosa (AP), a Doença Celíaca (DC) e Insuficiência Ovariana Primária (ADA, 2019; Jameson, JL; weetman, AP; Braunwald E, Fauci AS & AL, 2001). Posteriormente, a descoberta e identificação dos diferentes anticorpos contra os ilhéus pancreáticos reforçou a natureza autoimune desse mecanismo.

A doença autoimune mais frequente associada à DMT1 é a doença tiroideia autoimune. Em vários estudos realizados a nível internacional a prevalência de anticorpos anti-tiroideos em doentes com DMT1 variou entre 3 - 50% (Kakleas, Soldatou, Karachaliou, & Karavanaki, 2015a).

Diferenças no comportamento da diabetes entre doentes portadores de doenças autoimunes (DAIS) têm sido objeto de estudo em vários países, com resultados por vezes contraditórios. Como não há dados referentes à população portuguesa, realçamos a importância da realização de estudos epidemiológicos que contribuam para o conhecimento real da prevalência e incidência da doença tiroideia autoimune (DTA) na DMT1 e verificar se a associação entre doenças autoimunes pode influenciar o curso de cada doença.

O objetivo do presente estudo é determinar a prevalência e incidência de doença tiroideia autoimune em doentes portadores de DMT1 seguidos no Serviço de Pediatria Ambulatória - Unidade de Endocrinologia Pediátrica de Diabetes e Crescimento, do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Pretendemos ainda identificar os anticorpos presentes nesta população e verificar se existe associações entre os anticorpos presentes na DMT1 e na DTA.

Este estudo está organizado em oito capítulos. No primeiro capítulo definimos a DMT1, revemos as funções da insulina e glucagon, acompanhamos a evolução do modelo patogénico de Eisenbarth, os diferentes estádios clínicos da DMT1 e os critérios de diagnóstico. Expomos a epidemiologia da doença, explorámos o papel dos fatores genéticos, ambientais e associados às células β . Explanamos a patogénese da autoimunidade e a abordagem a ter perante a DMT1. No segundo capítulo definimos os

Síndromes Poliglandulares Endócrinas e a sua classificação. No terceiro capítulo revemos a Doença Tiroideia Autoimune, com definição, epidemiologia e genética.

No quarto capítulo apresentamos o material e métodos, a seleção da amostra, os critérios de inclusão e exclusão, as considerações éticas da investigação, descrição dos instrumentos, metodologia, análise estatística e formulas das prevalência e incidência.

No quinto capítulo apresentamos os resultados com análise descritiva das variáveis demográficas, sexo, idade, peso, IMC e altura. Fizemos também a análise descritiva em relação aos seguintes dados analíticos Glicemia média dos últimos 14 dias, valores séricos das hormonas da tiroide, anticorpos anti-pancreáticos (ICA), Anti-insulínicos (IAA), Anticorpo anti-descarboxilase do acido glutâmico (GADA), anti-proteína tirosina fosfatase like (IA2A), anti-ZnT8, anti-peroxidase tiroideia (ATPO), número de anticorpos positivos, duração de DMT1, duração de DTA, idade no diagnóstico de DMT1 e idade no Diagnóstico de DTA. Posteriormente identificamos o número de crianças que desenvolveu DTA, calculamos a prevalência no período de 2002 a 2018 e a incidência em 2019. Com o teste t de student comparamos as médias das diferentes variáveis para o grupo que desenvolveu a DTA e o que não desenvolveu a doença. Mostramos qual a apresentação clínica mais frequente da DTA. Utilizamos a correlação de Pearson para procurar uma eventual relação entre duração de DMT1 e duração de DTA e entre a idade no diagnóstico de DMT1 e idade no Diagnóstico de DTA, bem como entre os anticorpos da DMT1 e da DTA. Também com a correlação de Pearson indagamos possíveis associações entre os anticorpos presentes na DMT1 e na DTA e ainda com o número de anticorpos. Terminamos os resultados com uma breve análise descritiva dos Anti-corpos anti-ZnT8.

No sexto capítulo apresentamos a discussão dos resultados obtidos na nossa amostra e comparamos com a literatura e com outros estudos.

No capítulo sete expomos a conclusão deste estudo e as suas limitações, terminamos no capítulo oito com as futuras linhas condutoras de investigação e por fim as nossas referências bibliográficas.

1. DIABETES MELLITUS TIPO I

O conhecimento sobre a DMT1 aprofundou-se muito nos últimos 25 anos, nomeadamente sobre a epidemiologia, a fisiopatologia, a genética, o fenótipo das células β de Langerhans e do impacto da doença. Ao longo do tempo, vários métodos de abordagem clínica desta doença têm sido utilizados e apesar do grande desenvolvimento tecnológico que se verificou nos últimos anos, continuam a existir dificuldades no controlo glicémico, na assistência médica, na diminuição do número de complicações, na diminuição do impacto da própria doença na vida das pessoas e da nossa sociedade. Apesar da cura da DMT1 ainda ser uma utopia (DiMeglio, Evans-Molina, & Oram, 2018), é essencial continuar a investir em novos e rigorosos estudos, assentes em pilares sólidos e críticos, para explorar todas as eventuais possibilidades de cura.

A DMT1 é uma doença metabólica, associada à destruição autoimune das células β , dos Ilhéus de Langerhans do pâncreas (ADA, 2018; Kakleas et al., 2015a; Wägner, Ana; Santana Ângelo; Hernández, 2011), ficando a produção de insulina comprometida. Esta hormona é fundamental no metabolismo dos carboidratos, dos lípidos e das proteínas. A insulina inicialmente facilita o armazenamento de glicose em glicogénio, dos ácidos gordos livres em triglicerídeos, dos aminoácidos em proteínas e inibe a glicogenólise, a lipólise, a citogénese, a proteólise e a gliconeogénese. A homeostasia metabólica basal depende do equilíbrio adequado entre a insulina e a glucagon. Com a diminuição sérica da insulina, a glucagon estimula a mobilização da glicose, dos ácidos gordos livres e glicerol, da captação hepática de aminoácidos, com a conversão dos seus esqueletos de carbono em glicose e ainda estimula a citogénese a partir de ácidos gordos livres. O equilíbrio dos níveis normais de insulina e glucagon ajudam a manter o nível de glicose plasmática durante o jejum noturno entre 60 e 110 mg/dL, o nível de ácidos gordos livres em menos de 0,7 mmol/L, de cetoácidos em menos de 0,2 mmol/L e cada aminoácido em seu próprio nível. Quando surge diabetes, os níveis de insulina baixam, acentuando-se os efeitos do glucagon, nomeadamente a hiperglicemia e a cetoacidose (Genuth, S., 1998).

Cerca de 80 a 90% dos doentes apresentam marcadores imunes que incluem vários anticorpos anti-ilhéus pancreáticos (ICA), como o anti-insulina (IAA), anti-proteína tirosina fosfatase -like (IA2A), anti-descarboxilase do ácido glutâmico (GADA), anti-transportador

do zinco T8 (ZnT8A) (Brogan P.A., 2005) e Tetrapasmina-7. É uma doença heterogênea com etiologia multifatorial, com predisposição genética e desencadeantes ambientais (Kakleas *et al.*, 2015).

George Eisenbarth (1984) idealizou um modelo conceptual patogénico da DMT1, que tem vindo a sofrer pequenas alterações à luz do que se vai descobrindo uma vez que, esse modelo não explica totalmente a complexidade da patogénese da doença. O modelo mostra a massa de células β de Langerhans em função da idade, destacando-se uma sequência de eventos que começa com a predisposição genética de algumas pessoas que, quando sujeitas a um fator ambiental precipitante, desencadeiam processos de autoimunidade específicos contra os ilhéus pancreáticos, levando à perda progressiva de massa das células β , com conseqüente alteração da glicemia, aparecimentos dos sinais e sintomas de Diabetes, figura 1.

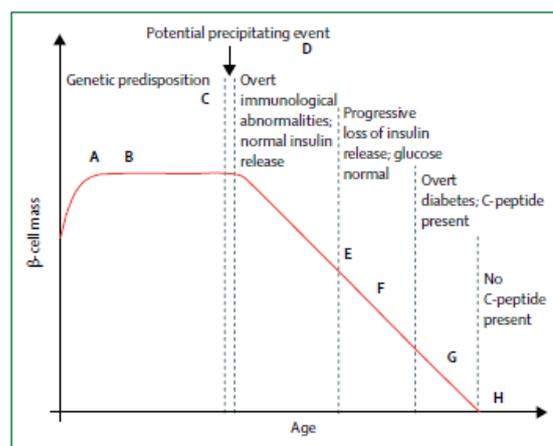


Figura 1- Desafios ao Modelo de Eisenbarth sobre a história natural da Diabetes mellitus tipo 1: A- A massa e função das células β inicial poder ser muito variável. B- Início da autoimunidade mensurável pela positividade aos autoanticorpos, mas outras alterações podem estar presentes. C- Os fatores ambientais afetar o curso da doença D- A perda de massa de células β pode ter remissão. E- Podem ocorrer alterações da glicemia antes do diagnóstico clínico – adaptado de DiMeglio *et al.*, 2018

O aparecimento da DMT 1 nas crianças é, geralmente, repentino, dramático e inclui sintomas como: poliúria, polidipsia, poliaquiúria, perda de peso, polifagia e em cerca de um terço dos casos apresenta cetoacidose, os adultos podem não apresentar esta sintomatologia clássica.

A DMT1, apesar de ser referida como uma diabetes juvenil, pode ocorrer em qualquer idade, havendo estudos que referem que cerca de 50% dos casos ocorrem na idade adulta,

muitos dos quais sendo inicialmente classificados como DMT2 (ADA, 2018a; DiMeglio et al., 2018). A obesidade infantil e no adulto pode também dificultar o seu diagnóstico.

Segundo a ADA há 3 estádios de DMT1, o estágio 1 é o início da diabetes, o doente apresenta glicemias normais com dois ou mais autoanticorpos. No estágio 2, o doente apresenta alterações da glicemia sem sintomatologia com mais de dois autoanticorpos positivos. No estágio 3 os sinais clínicos estão presentes sendo feito o diagnóstico clínico, ver tabela 1.

Tabela 1 – Estádios da DMT1 (Adaptado de ADA, 2018)

ESTADIAMENTO DA DIABETES MELLITUS TIPO 1			
Estádios	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3
Características	Autoimunidade Normoglicemia Sem sintomas	Autoimunidade Distúrbios da glicemia Sem sintomas	Autoimunidade Hiperglicemia Surgem sintomas
Critérios de diagnóstico	Múltiplos autoanticorpos Sem alterações na glicemia em jejum Sem alterações na tolerância à glicose	Múltiplos autoanticorpos Com alterações na glicemia em jejum e na tolerância à glicose: glicemia em jejum entre 100-126 mg/dl (5,6-6,9mmol/l) PTGO entre 149-199 mg/dl (7,8-11,0 mmol/l)	Critérios clínicos Critérios de diagnóstico standard de diabetes.

A maioria das pessoas com apenas um autoanticorpo não progride para DMT1, mas a seroconversão para dois ou mais autoanticorpos em crianças, está associado a um risco de 84% de ter DMT1 aos 18 anos (Ziegler AG, Rewers M, Simell O & 2013). O tempo entre o

aparecimento da positividade dos autoanticorpos e dos sinais clínicos de diabetes pode ser de meses a anos.

Os critérios de diagnóstico de Diabetes, de acordo com a Norma da DGS Nº 2/2001, de 14/01/2011, são a glicemia em jejum ≥ 126 mg/dl (ou $\geq 7,0$ mmol/l) ou sintomas clássicos de descompensação com glicemia ocasional ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l) ou glicemia ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l) às 2 horas, na prova de tolerância a glicose oral (PTGO) com 75g de glicose ou-Hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5$ %.

1.1. EPIDEMIOLOGIA

As diferentes taxas de incidência da doença parecem estar associadas a fatores predisponentes (idade, sexo e doenças prévias), a fatores facilitadores, nomeadamente condições socioeconómicas, de alimentação ou estilo de vida e a fatores precipitantes como a exposição a um agente patogénico ou mesmo a fatores de reforço (Bonita, R., 2006).

Esta doença é mais frequente no sexo masculino do que no sexo feminino (Diaz-Valencia PA, Bougnères P, 2015). A sua incidência parece ser influenciada pelas mudanças sazonais e mês de nascimento. As crianças nascidas durante a Primavera têm maior probabilidade de desenvolver DMT1. A maioria dos casos é diagnosticada no Outono e Inverno. A DMT1, apesar de aparecer em adultos, é mais frequente na infância e adolescência, sendo a sua maior incidência na faixa etária dos 10 aos 14 anos (Atkinson, Eisenbarth, & Michels, 2014; DiMeglio *et al.*, 2018; Stenberg, 2015).

A incidência e a prevalência da DMT1 variam substancialmente com a área geográfica. Países como a Finlândia e a Sardenha, apresentam uma incidência elevada de DMT1 nas crianças e nos adolescentes, respetivamente superior a 60 casos por 100.000 habitantes por ano e 30-40 casos por 100.000 habitantes por ano. Já países como China, Índia e Venezuela têm uma incidência é muito baixa, 0 -1 casos por 100.000 pessoas por ano.

A incidência global da DMT1 representa um dilema epidemiológico, já que existem grandes variações da incidência da doença em áreas vizinhas. Por exemplo, a incidência na Suécia é 1/3 da incidência na Finlândia e estes países apenas estão separados por 120 km.

Nos EUA a incidência é superior a 20 casos por 100.000 indivíduos por ano, em crianças e adolescentes com idades inferiores a 20 anos, enquanto que nos adultos, a incidência é cerca de 9 por 100.000 indivíduos por ano. Sendo mais baixa em países da América do Sul e Ásia, 5 casos por 100.000 crianças por ano (Atkinson, Eisenbarth, & Michels, 2014; Stenberg, 2015). Em Espanha, até aos 15 anos, a incidência de DMT1 é 17,7 casos por 100.000 habitantes por ano, enquanto em Portugal é de 13,3 casos por 100.000 habitantes por ano (Observatório da Diabetes, 2016).

Nas últimas décadas, a incidência tem vindo a aumentar em todo o mundo com um aumento médio anual de 2 % a 3%. Este aumento observa-se principalmente nas crianças com idades inferiores a 5 anos. Se a incidência da doença continuar a manifestar este padrão, a incidência global duplicará na próxima década. Pensa-se que o mecanismo, subjacente a este dilema da distribuição geográfica e do ritmo de crescimento da incidência, poderá ser atribuído a fatores ambientais e/ou comportamentais, pois só os fatores genéticos não conseguem explicar estas particularidades (DiMeglio *et al.*, 2018).

Algumas das múltiplas exposições ambientais facilitadoras do aparecimento da DMT1, podem ser explicadas pelas dietas das crianças e adultos, pela ausência de vitamina D em quantidades adequadas, pelas exposições virais associadas a inflamação dos Ilhéus de Langerhans como o Enterovírus e à diminuição da variedade microbiótica intestinal. A obesidade parece estar associada a um aumento da expressão de DMT1, o mecanismo que parece explicar esta associação parece ser o stresse imposto às células β (DiMeglio *et al.*, 2018).

Várias investigações estão a ser desenvolvidas tendo como principal objetivo esclarecer o papel da interação gene-ambiente na patogénese da diabetes.

1.2. FATORES AMBIENTAIS

A maior evidência da importância que os fatores ambientais têm no desenvolvimento da DMT1 é o aumento da sua incidência em crianças sem suscetibilidade genética. Este aumento começou em vários países em meados do século XX, como podemos ver na figura nº2.

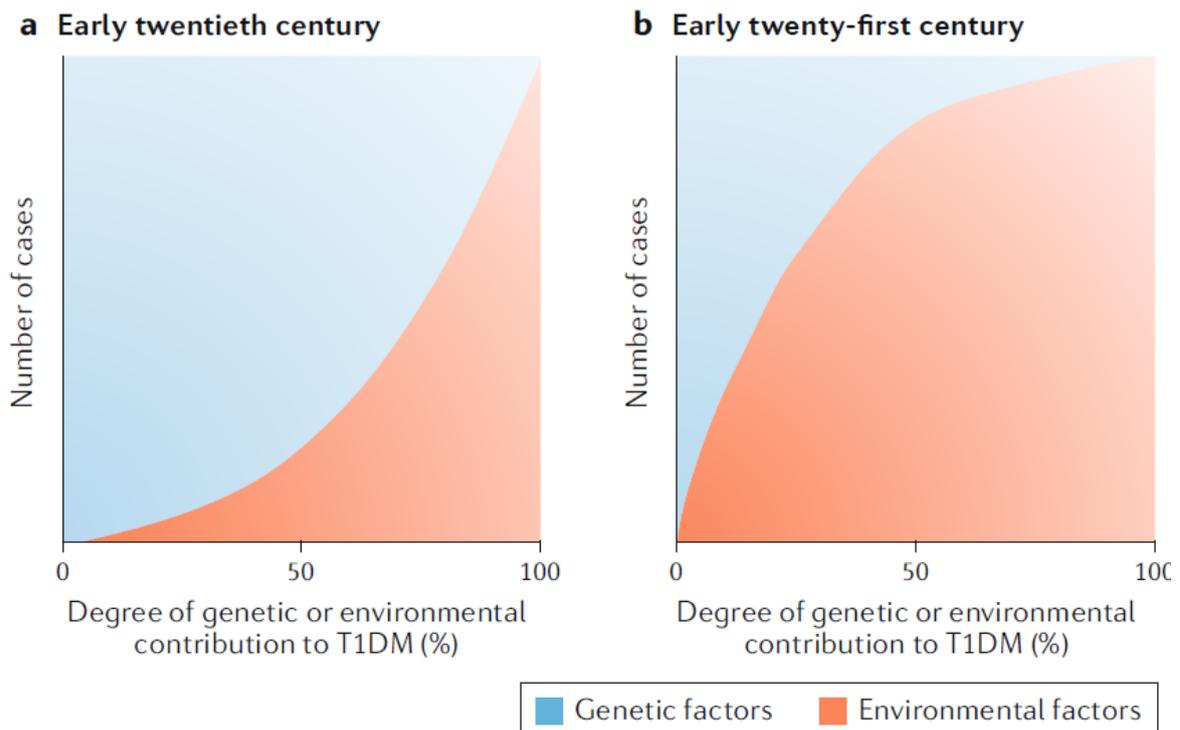


Figura 2- A crescente contribuição dos fatores ambientais no desenvolvimento da DMT1 no início do século XX e início do século XXI. Adaptado de (Ilonen, Lempainen, & Veijola, 2019).

A pressão dos fatores ambientais torna-se também evidente nos emigrantes de países com baixa incidência de DMT1, para países com incidências mais altas, em que estas pessoas passam a ter uma incidência da doença mais elevada que a do seu país de origem, ou em crianças, com idades inferiores a 10 anos que mudam de residência (Oilinki, T., Otonkoski, T., Ilonen, J., Knip & Miettinen, 2012). O risco de desenvolver DMT1 está também associado com o tempo de residência no novo país. Por exemplo, uma mulher emigrante que posteriormente dá à luz uma criança no “novo” país, o tempo de residência nesse “novo” país influencia o risco do bebé desenvolver DMT1, evidenciando-se neste caso a importância do período fetal e consequente risco de DMT1 (Hussen, Moradi, & Persson, 2015).

O carácter sazonal do diagnóstico de DMT1 (menor número de casos no verão), correlaciona-se com o menor número de infeções virais, cujo pico de incidência é maior nos meses de inverno, como exemplos destacamos a Parotidite, Rubéola e Enterovírus.

Os fatores ambientais que podem precipitar e ampliar um processo imunológico devem ser investigados nas fases precoces da infância ou mesmo no período fetal. Crianças nascidas no inverno parecem estar protegidas contra a DMT1, o que sugere que os fatores ambientais na fase fetal são mais importantes, pois estas crianças apresentam anticorpos maternos, transferidos através da placenta, por volta dos 6 meses de gravidez, que irá coincidir com o pico do verão, quando o número de vírus a circular é menor (Kordonouri, O., Shuga, N., Lewy, H., Ashkenazi, I. & Laron, Z., 2002; Vaiserman, 2007).

Várias investigações têm sido realizadas com o objetivo de demonstrar que a infeção viral pelo Enterovírus é a etiologia da doença, mas a sua veracidade ainda está por comprovar. Vários estudos têm sugerido a existência de um certo grau de infeção viral nos ilhéus pancreáticos na DMT1 comparativamente aos participantes do grupo de controlo, através da deteção do próprio vírus nos ilhéus, ou da deteção de fragmentos do seu genoma, do seu RNA ou ainda de anticorpos específicos. Um aspeto imunológico que foi demonstrado, foi a expressão aberrante da classe I HLA pelas células dos ilhéus nas amostras dos grupos diabéticos, o que não foi observado nos ilhéus do grupo de controlo. Esta expressão anómala verificada nos indivíduos diabéticos não era apenas limitada aos ilhéus que apresentavam sinais de infeção por Enterovírus (Ilonen et al., 2019; Krogvold, 2015).

São vários os mecanismos pelos quais o Enterovírus pode lesar as células β , nos casos de infeção ativa pode ocorrer citólise, porém perante uma infeção mais restrita sem replicação viral pode ocorrer apenas uma potencial deficiência funcional da célula ou os efeitos podem mesmo ser mínimos para a célula. A inflamação associada a esta patologia, tal como noutros mecanismos imunológicos, pode levar á lesão celular. Os autoantigenes libertados pelas células β , podem ser transportados pelos macrófagos aos gânglios linfáticos pancreáticos, para que se possam ativar as células T específicas dos autoantigenes com eventual regresso das células citotóxicas CD8+ aos ilhéus via circulação. Nos ilhéus, o vírus estimula ainda a libertação do interferão e melhora a apresentação do antígeno às células CD8+, induzindo a expressão da classe I HLA. Mutações genómicas do vírus durante a infeção também são comuns e estão associadas ao aumento do risco de DMT1 (Ilonen et

al., 2019; Roivainen et al., 2002). Por fim, falta referir o mimetismo molecular que pode surgir nesta infecção, no reconhecimento de epítomos antigénicos dos ilhéus.

Outro vírus que tem suscitado muitas investigações é o Rotavírus, num estudo introduziu-se a vacinação por rotina, contra este vírus, nas crianças australianas com mais de 6 semanas de idade, tendo sido comparada a incidência de DMT1, nos 8 anos antes e após a vacinação e verificou-se uma redução significativa (Perrett KP, Jachno K, Nolan TM, 2019). Nos EUA realizou-se um estudo similar obtendo-se a mesma evidência científica (Rogers, Basu, & Kim, 2019), já o mesmo não aconteceu com o estudo realizado na Finlândia (Ilonen et al., 2019).

Os vírus entéricos atuam também na mucosa entérica provocando aumento da permeabilidade da mucosa que pode ser importante na patogénese.

O Citomegalovírus e o Herpes Vírus, têm sido associados a uma ação protetora porque provocam uma forte resposta imunológica.

O papel que a nutrição pode desempenhar no desenvolvimento da DMT1, tem sido amplamente investigado e estudado. Muitos destes estudos foram, no entanto, inconclusivos, mas encontraram efeitos protetores numa alimentação rica em óleos polinsaturados do peixe, na amamentação e nos níveis séricos adequados de vitamina D. Os fatores que parecem estar associados a um elevado risco de desenvolver DMT1 são o elevado consumo do leite de vaca e de erros na diversificação alimentar do bebé (Ilonen et al., 2019). A obesidade parece ser um fator importante na diabetes, especialmente em crianças com baixo risco genótipo HLA.

Vamos então perceber melhor, como podem estes fatores ter um papel na DMT1 e na autoimunidade. Os óleos polinsaturados, com ácidos gordos omega 3, são muito abundantes nos frutos do mar e têm um papel inibidor em vários aspetos da inflamação, como na quimiotaxis dos leucócitos, na expressão de moléculas de adesão, na produção de prostaglandinas, de leucotrienos, de citocinas inflamatórias e na reatividade das células T helpers.

A amamentação influencia a composição da flora bacteriana do bebé, favorecendo o aparecimento de Bifidobactérias que degradam o leite materno em oligossacarídeos. A diminuição destas Bifidobactérias na flora intestinal aumenta o risco de DMT1.

A diversificação alimentar de um bebê também é muito importante. A sua realização de uma forma menos correta e adequada pode originar sequelas e/ou consequências importantes para a criança, como é o caso da intolerância ou alergias ao glúten, marisco e proteínas do leite de vaca. Assim, a introdução precoce de alimentos sólidos ricos em fibra, como a batata, a cenoura e nabos antes dos 4 meses ou a introdução tardia do glúten, parecem ser fatores que podem originar maior suscetibilidade da criança desenvolver DMT1 (Hakola L, Takkinen HM, Niinistö S, Ahonen S, Nevalainen J, Veijola R, Ilonen J, Toppari J, Knip M, 2018).

A vitamina D tem um efeito imunomodulador importante, níveis baixos de 25 hidroxivitamina D (biomarcador fiável da vitamina D) aumentam o risco de esclerose múltipla (condição autoimune). Foi identificado um polimorfismo no gene do recetor da vitamina D, que parece afetar os níveis de 25 hidroxivitamina D. Crianças com anticorpos anti-ilhéus, com a presença de alelos minor do rs7975232SNP (gene recetor da vitamina D), estão associadas a níveis mais baixos de 25 Hidroxivitamina D (Norris, 2018). Portanto foram encontrados baixos níveis de 25-hidroxivitamina D em crianças com DMT1, pelo que a terapia de substituição é aconselhada nos primeiros anos de vida (Norris, 2018).

A flora microbiana tem uma interação com o desenvolvimento do sistema imune. Vários estudos mostraram diferenças na proporção dos grupos bacterianos major, da flora intestinal, entre populações com diferentes prevalências de doenças autoimunes (Ilonen *et al.*, 2019).

Os lipopolissacarídeos produzidos pelas espécies *Bacteroides* têm menor capacidade de ativar a imunidade inata e educar o sistema imunológico do que os polissacarídeos produzidos pela *Escherichia Coli*. As espécies *Bacteroides* são mais frequentes nas crianças diabéticas enquanto os polissacarídeos da *Escherichia Coli* são mais frequente nas crianças saudáveis (Vatanen, 2016). Noutros estudos, compararam crianças com múltiplos anticorpos anti-ilhéus, com crianças saudáveis, demonstrando um aumento de espécies *Bacteroides* nas crianças com diabetes, em relação às espécies Firmicutes (mais frequentes nas crianças saudáveis). Verificou-se ainda que as crianças com múltiplos autoanticorpos têm poucas espécies produtoras de butirato. O butirato induz a produção de mucina, que é muito importante na integridade da mucosa entérica. Níveis baixos de espécies que

degradam a mucina, são indicativas de deficiência em mucina, o que implica um aumento da permeabilidade da mucosa entérica (De Goffau *et al.*, 2013).

1.3. FATORES GENÉTICOS

A DMT1 é uma doença poligénica hereditária. O risco familiar de contrair a doença, diminui à medida que diminui o grau de parentesco com o doente, sugerindo que a componente genética da doença, depende da combinação dos múltiplos fatores genéticos herdados dos seus progenitores, em que o efeito de cada *locus* também diminui à medida que o laço parental é menor. A concordância de gêmeos para DMT1 é de 23% -70%, o risco entre irmãos é de 6-7%, quando há herança genética materna o risco é de 1-4% e de 6-9% para herança paterna (Gonçalves, 2007; Ilonen *et al.*, 2019; Sharp, Weedon, Hagopian, & Oram, 2018).

As investigações na área da genética iniciaram-se em irmãos diabéticos, através da identificação de regiões genéticas partilhadas por ambos numa frequência mais elevada do que o esperado, 50%, tendo sido possível determinar a localização genómica dos loci de suscetibilidade e fazer o estudo do mapeamento genético (Gonçalves, 2007). Nesta abordagem identificaram-se 18 loci de suscetibilidade à DMT1, designados de IDDM E IDDM18 (Davies JL, Kawguchi y, Bennett ST, 1994). Desde então o estudo detalhado de alguns destes loci IDDM têm identificado genes que podem ter um forte contributo na etiopatogénese da DMT1, como o Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC) e 3 loci Não HLA: Locus insulina, CTLA4 e o locus PTN22.

1.3.1. COMPLEXO DE HISTOCOMPATIBILIDADE MAIOR (MHC)

O maior risco genético de desenvolver DMT1 é atribuído aos genes do Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC). A região MHC localiza-se no braço curto do cromossoma 6 (p21.3), que compreende genes agrupados em classe I (teloméricos) e classe II (centroméricos), separados pelos genes classe III, ver figura 3.

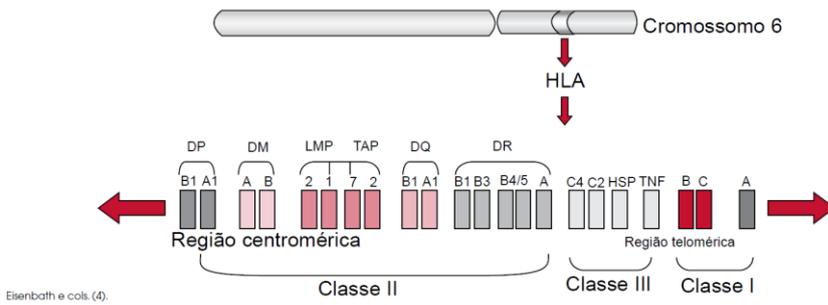


Figura 3- Estrutura genética do MHC humano, identificando os genes da classe I (HLA-A, B e C), de classe II (HLA-DR, DQ, DP) e os de classe III. Os genes TAP, LMP e HLA-DM não codificam proteínas da superfície celular- adaptado de (Jahromi MM, 2007)

As moléculas de classe I e II estão envolvidas na apresentação de peptídeos patogênicos aos linfócitos T e na resposta imune adaptativa. As moléculas da classe III são responsáveis por proteínas importantes na resposta imune, como a proteína do choque térmico (HSP70), o complemento (C2 e C4) e o fator de necrose tumoral (TNF), ver figura 3 (Silva, Mory, & Davini, 2008).

As moléculas de classe II do sistema HLA são expressas em células do sistema imune, como os monócitos/macrófagos, células dendríticas, epiteliais tímicas, linfócitos B e linfócitos T ativados, atuam no processamento e na apresentação de proteínas extracelulares. Estas moléculas são codificadas pelos genes MHC, nomeadamente os alelos DR e DQ. A sua função é reconhecer se proteínas, peptídeos e antígenos pertencem ou não ao nosso organismo, determinando assim, se terá ou não de se desenvolver uma resposta imunológica. Os doentes com DMT1 herdam a suscetibilidade para a doença, porque têm uma resposta anómala na manipulação dos antígenos, face a uma agressão (Ilonen et al., 2019; Silva et al., 2008). Os alelos DR*03 ou DR*04 são mais frequentes nos pacientes diabéticos (95% versus 50% dos controlos caucasianos). Os haplótipos que conferem maior suscetibilidade a desenvolverem DMT1, prevalentes na raça caucasiana, são:

HLA DRB1*0301-DQA1*0501-DQ*B10201 (DR3) e HLA DRB1*0401-DQA1*0301-DQB1*0301 (DR4-DQ8). Simultaneamente foram descobertos haplótipos que podem ser protetores e reduzir o risco de desenvolverem a DMT1 como o DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1-0602 (DR15-DQ6). Foram encontradas outras associações HLA em diferentes grupos raciais, mas que permanecem pouco caracterizadas (Noble JA., 2015).

Muitas investigações associadas com o genoma identificaram mais de 60 loci não-HLA associadas a um maior risco de desenvolver DMT1, como INS, PTPN22, CTLA-4 e IL2RA. Estas variantes estão relacionadas com o sistema imunológico, salientando-se a expressão do gene da insulina no timo, a regulação da ativação dos linfócitos T e a resposta a vírus (Noble JA., 2015). No entanto a presença de qualquer uma dessas variantes tem um efeito individual muito modesto no risco geral de um indivíduo desenvolver DMT1.

Associações genéticas HLA e não-HLA permitem-nos identificar potenciais alvos para terapias modificadas ou subgrupos de doentes que possam beneficiar de intervenções imunológicas específicas.

A combinação de ambos os polimorfismos HLA e Não-HLA levou à elaboração dos graus de risco genético para ter DM e ainda discriminar se é de tipo 1 ou tipo 2. O estudo genético da população seria o próximo passo para identificação dos futuros portadores da doença, o que só poderá acontecer quando o custo das análises for suficientemente baixo para se poderem realizar em massa.

1.4. PATOGENESE DA AUTOIMUNIDADE

A patogénese da DMT1 resulta de uma interação complexa entre as células β pancreáticas, os fatores ambientais e o sistema imune adaptativo e inato (DiMeglio *et al.*, 2018). A autoimunidade é determinada pelo polimorfismo genético e desencadeada por fatores ambientais, entre os quais os agentes infecciosos. Têm surgido várias hipóteses para a autoimunidade, a hipótese efetora refere a existência de clones de células T aberrantes, que reagem contra os próprios antígenos. A hipótese supressora refere que as células T reguladoras apresentam uma ação deficitária perante o ataque das células T contra os próprios antígenos. Por fim, a teoria de que são os fatores ambientais a provocarem esta autoimunidade, como por exemplo as infeções virais pelo Enterovírus. Apesar da intensa investigação esta última hipótese tem sido difícil de se comprovar (Kakleas, Soldatou, Karachaliou, & Karavanaki, 2015b).

A insulite é um infiltrado inflamatório nos ilhéus pancreáticos, composto por macrófagos, células dendríticas, linfócitos T e B. Pensa-se que, no início da DMT1, o mecanismo que levará ao aparecimento da insulite será a apresentação dos peptídeos da superfície das células β , pelas Células Apresentadoras de Antígenos (APCs), como auto-antígenos nos gânglios pancreáticos que, depois de interagir com os linfócitos T CD4+, ficam auto-reativos (Neves, Neves, Castro Oliveira, Oliveira, 2017; DiMeglio *et al.*, 2018 & Silva *et al.*, 2008). Estas células CD4+, por sua vez, medeiam a ativação dos linfócitos CD8+. Essas células T CD8+ ativadas atacam os ilhéus Langerhans, nomeadamente as células β , que expressam auto-antígenos imunogénicos nas principais moléculas de superfície da classe I, do MHC, provocando a sua lise. A destruição das células β é ainda exacerbada quer pela libertação de citocinas pró-inflamatórias, quer pela libertação de radicais livres de oxigénio de outras células imunológicas, como macrófagos inatos, células *Natural killers* e neutrófilos. Este processo é agravado porque os linfócitos T reguladores não suprimem efetivamente a autoimunidade (figura 4).

Estes dados são apoiados pela análise do pâncreas dos doentes com diabetes, em autopsias ou de dadores cadavéricos, que nas lesões insulíticas apresentam maioritariamente as células TCD8+, seguido dos macrófagos (CD68+), das células T CD4+, dos linfócitos CD20+ e por último os plasmócitos CD138+. Raras eram as células FOXP3+ (Células T reguladoras) e Células *Natural killers*. As lesões insulíticas são lobulares, similares à perda dos melanócitos no Vitiligo.

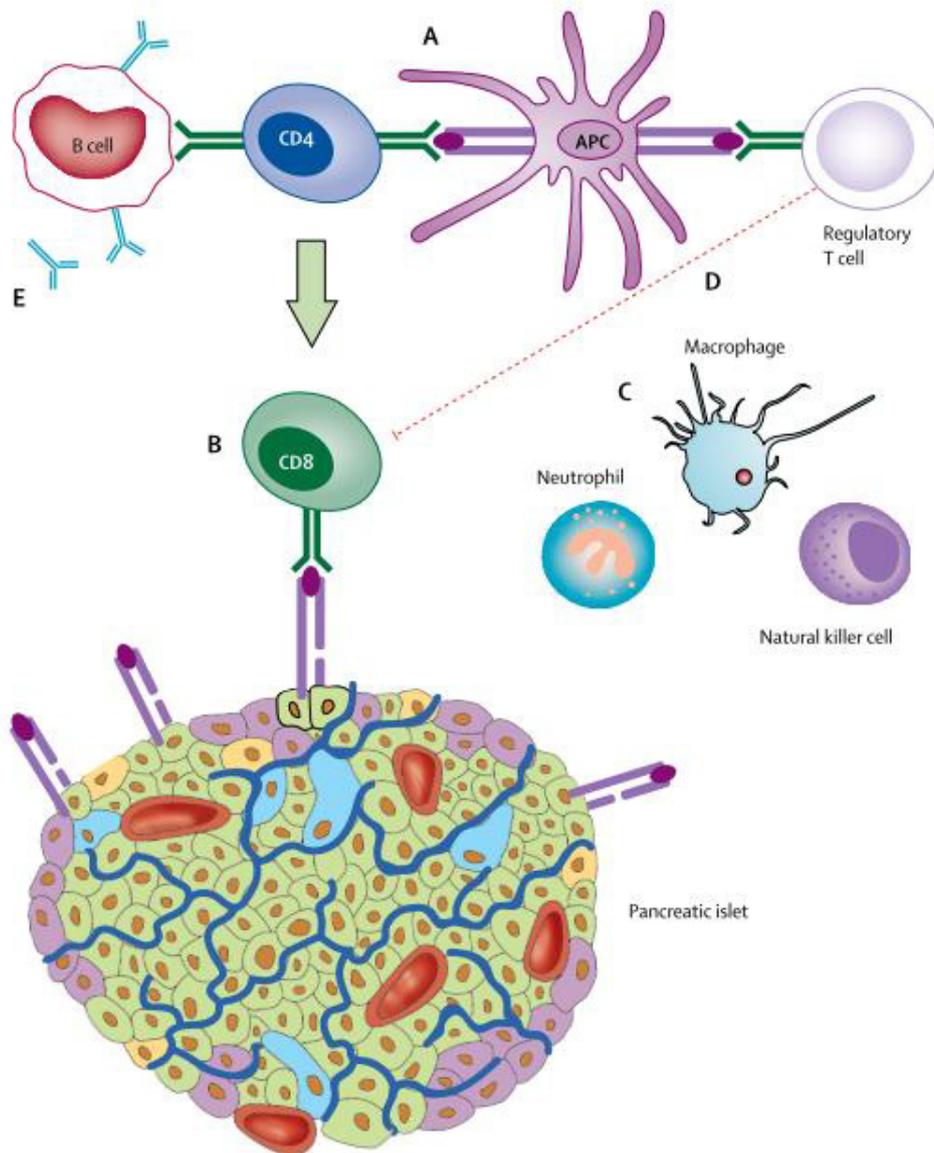


Figura 4- Imunopatogenese da DM1 (DiMeglio et al., 2018)

No caso do pâncreas ser de um cadáver com diagnóstico de diabetes há mais de 5 anos, a maioria dos ilhéus apresenta deficiência de insulina, com secreções normais de outras hormonas, como a somatostatina produzida pelas células δ , a glucagon secretada pelas células α e o polipeptídeo libertado pelas células PP, pelo que podemos deduzir que na DM1 há uma perda seletiva das células β (Atkinson *et al.*, 2014; Willcox, Richardson, Bone, Foulis, 2009). Os sintomas clínicos da doença surgem quando há uma perda de 90% a 95% das células β . O diagnóstico pode ocorrer quando apenas 2/3 destas células foram destruídas. O tamanho do pâncreas é muitas vezes desvalorizado, mas verifica-se que um doente com DM1, apresenta um pâncreas mais pequeno no momento do diagnóstico comparativamente com uma pessoa saudável com o mesmo IMC (Atkinson *et al.*, 2014).

As células T ativadas dentro dos gânglios pancreáticos também estimulam os linfócitos B a produzirem autoanticorpos contra proteínas das células β . Esses anticorpos podem ser medidos na circulação e são considerados biomarcadores da DMT1.

Destes biomarcadores, os anticorpos pancreáticos (ICA) foram os primeiros a serem detetados em 1974. Desde então, foram descobertos os Anti 65 descarboxilase do ácido glutâmico (GADA), a tirosina fosfatase like (IA2A) e o anti insulina (IAA) (Kakleas *et al.*, 2015a).

Os anticorpos anti ilhéus são imunoglobulinas G (IGG) que reagem contra o citoplasma de células β e α do pâncreas, são encontrados em 70% dos doentes com diagnóstico recente de diabetes.

Os anticorpos anti insulina são detetados na altura do diagnóstico, antes da administração da insulina exógena. As suas concentrações plasmáticas diminuem e podem desaparecer durante um pequeno período, após início da terapêutica insulínica. Os IAA, em conjunto com os outros autoanticorpos têm um papel importante no prognóstico da DMT1, particularmente nas crianças com idades inferiores a 5 anos.

Os GADA são anticorpos contra a descarboxilase do ácido glutâmico, uma proteína que participa na síntese do Y-aminobutirato das células pancreáticas. Esta enzima pode ainda ser encontrada no cérebro, no estômago e na glândula tiroideia, na forma de dois isómeros: o 65 e o 67. A GAD 65 é o antígeno alvo dos anticorpos da DMT1. Os GADA são detetados em 70% a 80% dos doentes com diabetes tipo 1, surgindo muito tempo antes do aparecimento das manifestações clínicas da doença e permanecendo positivos durante muito tempo. A perda da tolerância imunológica coincide com o início da insulite.

Os anticorpos Insulinoma antígeno 2 (IA2A) reagem contra a parte extracelular da tirosina fosfatase das células β , o papel deste antígeno é provavelmente a regulação da secreção da insulina. Foi descoberto posteriormente e é doseado em 50% a 75% dos doentes com DMT1.

O autoanticorpo mais recente reage contra o transportador 8 de zinco (ZnT8), cuja função é concentrar o Zinco nos grânulos secretores de insulina. O ZnT8 está ligado com o gene SIC30A8, que está relacionado com as células endócrinas secretoras de hormonas dos ilhéus de Langerhans e com o haplótipo DR13-DQB1*0604. Dos doentes com diagnóstico

recente de DMT1, 68-72% apresentam AZnT8. Dos jovens com diagnóstico recente de DMT1, com ICA, GADA, IA2A e IAA negativos, 26% apresentam positividade para o ZnT8A, pelo que este anticorpo tem uma especificidade de 99% e uma sensibilidade de 72% para DMT1 recente. Doentes com DMT1, com GADA e ZnT8A, têm maior risco de desenvolver tiroidite autoimune (Kakleas et al., 2015; Rogowicz-Frontczak et al., 2014).

Quando se realiza o diagnóstico de DMT1, deve-se fazer os testes para GADA e IA2A. No caso de serem negativos deverá pedir-se ICA e IAA para confirmação de DMT1 e para ser preditivo do curso da doença. Será importante incorporar o ZnT8A como rotina.

1.5. FATORES ASSOCIADOS ÀS CÉLULAS β

A massa das células β pancreáticas varia ao longo da idade (Eisenbarth GS, 2005), ver figura 5, aumentando inicialmente no feto, no período intrauterino e no período neonatal devido aos elevados requerimentos de insulina pela ampla provisão de nutrientes que passam através da placenta e da amamentação, respetivamente. Durante o período de desmame do leite materno, ocorre uma redução de massa de células β por apoptose, podendo levar a ciclos fisiológicos de sensibilização imunológica. Na maioria dos indivíduos, esta reatividade anti-ilhéu desaparece, mas por vezes pode permanecer e, neste caso, eventualmente desenvolver diabetes. A presença de autoanticorpos no sangue do cordão umbilical de indivíduos que não desenvolveram insulite autoimune parece suportar esta teoria (STANLEY & NORRIS, 2004).

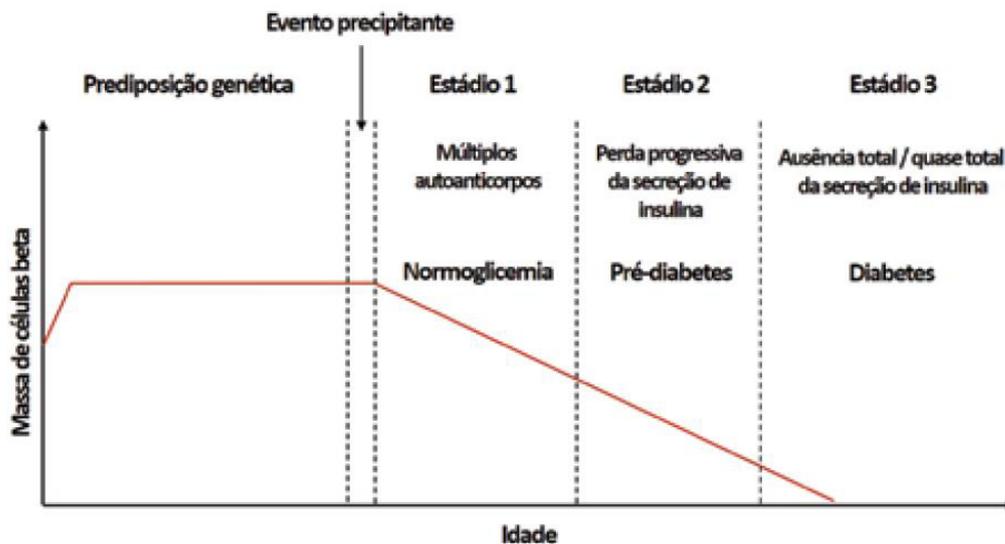


Figura 5- História natural da diabetes tipo1 adaptado de (C. Neves, J.S. Neves, S. Castro Oliveira, A. Oliveira, 2017)

A massa pancreática total nos doadores de órgãos com DMT1 é apenas 55% da massa total dos doadores de órgãos sem diabetes, para a mesma idade e IMC. Também se tem verificado que os familiares em primeiro grau, dos doentes com DMT1, apresentam pâncreas menores que o grupo de controlo sem história de DMT1.

Estudos baseados nas amostras de pâncreas de doadores de órgãos mostraram que a massa de células β , a massa de células α e a massa do compartimento exócrino, são menores nos doadores que tiveram DMT1 do que no grupo de doadores sem diabetes.

A função das células β pode ser avaliada antes do diagnóstico da doença, através do doseamento sérico de insulina endógena após a administração de glicose endovenosa. Neste teste de tolerância à glicose endovenosa, a primeira fase da resposta insulínica é calculada pela soma das concentrações séricas de insulina ao 1º e 3º minutos após a administração endovenosa, refletindo assim, a rápida libertação da insulina armazenada nos grânulos das células β . Os resultados deste teste apresentam-se reduzidos muito antes do diagnóstico e no momento do diagnóstico declinam abruptamente.

No momento do diagnóstico de DMT1, os pacientes têm uma função reduzida das células β , comparativamente com as pessoas saudáveis. A redução da hiperglicemia pode parcialmente recuperar a função secretora de insulina destas células e os pacientes necessitam de quantidades de insulina exócrina reduzidas. Com o tempo, muitas destas células vão-se perdendo, mas não totalmente, pois na análise de amostras pancreáticas

foram ainda encontradas células β residuais, em indivíduos com diagnóstico antigo de diabetes. Cerca de 30-80% das pessoas com diagnóstico antigo de diabetes, têm células micro-secretoras de insulina, que podem ser monitorizadas pelo doseamento do peptídeo C, já que este é segregado pelas células β na proporção de 1/1 com a insulina. Assim, pode concluir-se que há uma redução muito significativa da função e do número de células β , porém esta perda não chega a ser total. Este aspeto é muito importante para o controlo da diabetes e para a redução das complicações tardias, já que a secreção persistente de peptídeo C foi relacionada com a diminuição de retinopatia, nefropatias, hipoglicemias e melhoria da resposta ao glucagon perante a hipoglicemia. Sendo assim importante desenvolver intervenções que aumentem a sobrevivência destas células residuais.

Os mecanismos que permitem a persistência das células β e a sua resistência ao ataque imune ainda não são conhecidos, o que nos poderia orientar em novas abordagens terapêuticas.

As anormalidades das células β também podem contribuir para a patogénese da DMT1, levando ao suicídio das referidas células. Entre as anormalidades destaco a sobre expressão da classe I HLA destas células, presentes nas amostras pancreáticas de cadáveres doadores com DMT1 e a sobrecarga do seu retículo endoplasmático, associado á aceleração da morte celular, a alterações da divisão do RNA, a erros de tradução de proteínas e de estruturação, originando produtos que são potenciais antígenos imunogénicos.

A sobrecarga das células β pode ser provocada por fatores de stress persistentes e severos que ativam uma cascata que leva á apoptose celular. Estes fatores de stress são heterogéneos, podendo ser uma sobrecarga metabólica, citocinas pro-inflamatórias, infeções virais, etc.

1.6. ABORDAGEM DA DIABETES TIPO 1

O marco terapêutico mais importante na história da diabetes é sem dúvida a descoberta da insulina em 1921-22. A terapêutica com insulina melhorou a sobrevivência e a qualidade de vida dos doentes com diabetes, mas não significa a cura, nem uma regulação metabólica

adequada que evite o aparecimento das complicações tardias da diabetes (retinopatia, doença cardiovascular e/ou hipoglicémias).

Os países mais desenvolvidos para otimizar a terapêutica utilizam vários análogos da insulina e várias tecnologias como bombas de insulina e monitores contínuos de glicose.

Concluído o diagnóstico inicial e a estabilização metabólica, um dos objetivos a alcançar é a preservação da secreção endógena de insulina, o que pode envolver uma terapia intensiva de insulina, tecnologia mecânica e mais recentemente, uma intervenção imunológica contra a destruição de células β , referida em alguns ensaios. A secreção endógena de insulina, ainda que baixa, parece estar associada com uma diminuição das complicações tardias, ou seja, menor incidência de retinopatia, de doenças cardiovasculares e hipoglicémias graves. Uma forma de monitorizar esta secreção endógena é através do peptídeo C, como já foi referido. Da análise das concentrações do peptídeo podemos concluir que a destruição das células β é mais rápida no primeiro ano após o diagnóstico.

A insulinoterapia pode ser administrada por vários métodos, inicialmente, a insulina era administrada com múltiplas injeções diárias. Podemos falar de dois tipos de insulina, a insulina de ação prolongada, que fornece a insulina basal, e a insulina rápida que é administrada antes das refeições e baseada nos carboidratos consumidos. Os métodos mais recentes são as bombas de insulina e a monitorização contínua da glicémia, que estão associadas a uma diminuição do número de hipoglicémias, incluindo a hipoglicémia noturna nas crianças com menos de 18 anos e menor concentração da HbA1c. Atualmente, em crianças com grande dificuldade de otimização metabólica, o transplante de células β é já uma realidade.

2. SINDROMES POLIGLANDULARES AUTOIMUNES (SPAS)

São doenças raras que se caracterizam por associações de duas ou mais doenças endócrinas autoimunes, podendo também existir doenças autoimunes (DAIS) não endócrinas. Nestas situações verifica-se autoimunidade contra mais que um órgão endócrino e/ou não endócrinos (Kakleas *et al.*, 2015a).

A classificação das SPAS é baseada no quadro clínico, terreno genético e idade de aparecimento. De acordo com Neufeld (Neufeld, M; Maclaren, N.; Blizzard, 1980), podem dividir-se em 3 tipos:

Tipo I- Associada à doença de Addison, candidíase mucocutânea crónica ou hipoparatiroidismo idiopático;

Tipo II- Inclui a doença de Addison associada à doença tiroideia autoimune da (DTA) e/ou à diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1);

Tipo III- inclui a presença de DTA associada a outras DAIS; semelhante ao tipo II, mas do qual se exclui o envolvimento da glândula suprarrenal (Neufeld, M; Maclaren, N.; Blizzard, 1980).

Os mesmos autores subdividiram ainda o tipo III em A, B e C:

A – Associação entre DTA e DM1;

B – Associação entre DTA e anemia perniciosa;

C – Associação entre DTA e vitiligo e/ou alopecia e/ou outras DAIS (Capo A, 2013; Eiraa & , Ângela Motaa , Rachel Silvéria , Rita Monteiroa , Marina Bastosa, 2017). Dado o vasto espetro atual de DAIS, alguns autores defenderam recentemente uma divisão da SPA tipo III em quatro subgrupos de acordo com os sistemas envolvidos (Tabela 2) (Eiraa, Motaa, Silvéria, Monteiroa, & Bastosa, 2017)

Tabela 2- Classificação da SPA tipo III adaptado (Eiraa & , Ângela Motaa , Rachel Silvérioa , Rita Monteiroa , Marina Bastosa, 2017)

Doença autoimune da tireóide Tiroidite de Hashimoto, mixedema idiopático, tiroidite assintomática, doença de Graves +			
III A	III B	III C	III D
Doenças endócrinas	Sistema gastrointestinal	Pele Sistema hematológico Sistema nervoso	Doenças do tecido conjuntivo Vasculites
Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1 Síndrome de Hirata	Gastrite atrófica Anemia perniciosa Doença celíaca	Vitiligo Alopecia	Lúpus eritematoso sistêmico Lúpus eritematoso discóide Doença mista do tecido conjuntivo
Falência ovárica prematura Neurohipofisite linfocítica	Doença inflamatória intestinal	Anemia hemolítica autoimune Trombocitopenia autoimune Síndrome antifosfolipídico	Artrite reumatóide Esclerose sistêmica Síndrome de Sjögren
	Hepatite autoimune Cirrose biliar primária Colangite esclerosante	Miastenia gravis Esclerose múltipla Síndrome de <i>Stiff-man</i>	Vasculite sistêmica

Outros autores advogam ainda a existência da SPA tipo IV (sendo esta a classificação mais atual) quando apresentam associações de DAIS que não cumprem critérios para nenhum dos tipos anteriores. Vamos então falar sobre esta última classificação (Kakleas *et al.*, 2015b).

2.1. SPA TIPO I

O diagnóstico exige a presença de doença de Addison, candidíase mucocutânea crônica ou hipoparatiroidismo idiopático.

É causada por uma alteração genética única, autossômica recessiva, no gene regulador (AIRE) do cromossoma 21. A faixa etária mais atingida é entre os 3-5 anos ou nos adolescentes. O início da doença surge na infância com o aparecimento de candidíase mucocutânea. Nestas crianças devem-se fazer pesquisas de anticorpos anti-ilhéus, anti 25-hidroxilase, anti-parietais, anti-glutinaase e doseamento de vitamina B12.

Outras situações que também podem estar associadas são: hepatite autoimune, hipotiroidismo primário, vitiligo e anemia perniciosa (Kakleas *et al.*, 2015b).

2.2. SPA TIPO II

O seu diagnóstico exige a presença de doença de Addison associada a DTA e/ou DMT1.

É mais frequente nas mulheres, surgindo na primeira década de vida, tendo o maior pico na faixa etária dos 20-40 anos. As alterações genéticas associadas a esta SPA ocorrem nos alelos da classe II HLA DQ2 e DQ8 (genes da resposta imune), embora alguns estejam também associados ao HLA-DR3 e HLA-DR4.

Outras situações que podem também estar associadas são a doença de Addison, a deficiência de IgA, a Doença de Graves, o Hipopituitarismo, a DMT1, a Doença de Parkinson, a Miastenia Gravis, a Doença Celíaca, o Vitiligo, a Alopecia, a Anemia Perniciosa e o Síndrome de Stiff-man. Pode também estar presente a insuficiência da suprarrenal, hepatite, mal absorção e disfunção do baço (Kakleas et al., 2015b).

Nos doentes com SPA II devem ser investigadas a presença dos seguintes anticorpos:

- IA2, IAA e GADA associados à DMT1
- Anti -TG e ATPO associados à DTA
- 21-Hidroxilase associada a Doença de Addison
- Transglutaminase relacionada com a Doença Celíaca
- Enzima Citocromo P450 ligado à Hepatite autoimune (Kakleas et al., 2015b)

2.3. SPA III

Estão presentes as mesmas doenças exceto a insuficiência adrenal. Tal como nas SPA II, também nesta situação existe o fator hereditariedade poligénica associado aos haplótipos da classe II HL(Kakleas et al., 2015b).

A SPA III foi dividida em três subtipos: A, B e C. No subtipo A há uma associação da DTA com a DMT1. No subtipo B há uma associação entre a DTA e a anemia perniciosa. No subtipo C a associação é entre a DTA e Vitiligo alopecia e/ou doenças autoimunes

específicas ou sistêmicas (Doença Celíaca, Hipogonadismo, Miastenia Gravis, Sarcoidose, Artrite Reumatoide) (Kakleas et al., 2015b).

2.4. SPA IV

Como já referido anteriormente, síndromes endócrinas autoimunes que não cumpram os critérios das outras SPA, inserem-se nesta categoria. A DMT1 apresenta uma prevalência de 4-18% na SPA I, de 60% na SPA II e de 14,5 % na SPA III. As SPA são mais frequentes nas mulheres, surgem na meia idade e estão associadas à classe II (Kakleas et al., 2015b).

3. DOENÇA TIROIDEIA AUTOIMUNE

A doença tiroideia autoimune (DTA) é caracterizada pela produção de autoanticorpos contra a glândula tiroideia, há infiltração linfocítica de células T, B e de citocinas inflamatórias na glândula que pode desenvolver vários graus de disfunção tiroideia (Dayan C M; Daniels G H, 1996). É a doença autoimune mais associada à DMT1 (Kakleas et al., 2015a).

Os anticorpos são dirigidos contra proteínas específicas da tiroide, nomeadamente a peroxidase tiroideia (Anti-TPO) e a tiroglobulina (anti-TG). A peroxidase tiroideia é uma proteína glicosada transmembranar, que se localiza na parte folicular das células tiroideias e é responsável pela iodação da tirosina e produção das hormonas tiroideias T3 e T4. A peroxidase tiroideia pode ainda encontrar-se nos eosinófilos, nas células reticulares e nas células salivares. Os auto anticorpos anti-TPO têm um papel importante no processo inflamatório contra a glândula tiroideia, porque ativam o complemento. A tiroglobulina tem um papel importante na iodação e formação das hormonas tiroideias. Esta é uma glicoproteína com um peso molecular de 660.000 DA, sendo um constituinte básico do coloide com resíduos tirosina. Os anti-TG têm um papel menor no processo inflamatório (Blanchin S, Estienne V, Durand-Gorde JM, Carayon P, 2003; Kakleas et al., 2015a).

A maioria dos doentes com anticorpos anti-tiroideus apresentam, contudo, uma função tiroideia normal. No entanto a autoimunidade tiroideia pode apresentar-se quer como um hipotiroidismo (Tiroidite de Hashimoto) quer como um hipertiroidismo (Doença de Graves). O hipotiroidismo pode ser subclínico, em que o doente apresenta elevação da TSH, com níveis normais de T4 ou pode ser um hipotiroidismo clínico, em que além da elevação de TSH, o doente também apresenta uma T4 baixa. Só em 10% das crianças com anticorpos tiroideus, se verifica um hipotiroidismo clínico que, ecograficamente, apresenta um aumento da glândula e distúrbios da ecoestrutura, como pseudonódulos (50% dos casos). Na DMT1 o hipotiroidismo subclínico é o mais prevalente (40-55% dos casos)(Blanchin S, Estienne V, Durand-Gorde JM, Carayon P, 2003; Kakleas et al., 2015a).

Os níveis de TSH podem estar relacionados com a duplicação dos níveis de autoanticorpos contra a tiroide. A estimulação imunológica e a disfunção da glândula também podem ser maiores pela presença simultânea de Anti-TPO e Anti-TG. Atualmente, ainda não está

esclarecido se os autoanticorpos estão diretamente envolvidos no processo de destruição da glândula, ou se eles refletem a destruição do tecido tiroideu pela infiltração de células T. O marcador mais específico da função tiroideia parece ser o Anti-TPO.

Os sinais clínicos de hipotireoidismo são dor na glândula, fadiga, intolerância ao frio, bradicardia, aumento de peso, letargia, ou diminuição da curva de crescimento. Apesar da monitorização frequente para os anticorpos tiroideus nos doentes com DMT1, as manifestações clínicas do hipotireoidismo são raras. O tratamento consiste na terapêutica de substituição da levotiroxina. Nestes doentes o hipotireoidismo subclínico pode estar associado com uma hipoglicémia sintomática e uma diminuição da curva do crescimento (alguns estudos não apresentaram alterações do IMC nem de glicémia), nomeadamente quando a TSH > 110 $\mu\text{U/L}$. A hipoglicémia origina a diminuição das necessidades de insulina enquanto que a absorção inibida para a circulação, pode originar um aumento da dose de insulina e assim originar uma secreção imprevisível e cumulativa de insulina. O hipotireoidismo subclínico pode ainda estar associado a um perfil lipídico adverso. O tratamento precoce do hipotireoidismo subclínico em doentes com DMT1 reduz o risco de dislipidémia e doença coronária, assim como reduz o volume da tiroide, previne o desenvolvimento de bócio, através da redução dos níveis de TSH e expressão de antigénios tiroideus, com conseqüente redução de autoanticorpos tiroideus e do infiltrado linfocítico da Tiroide (London: RCOG Press,(UK), National Collaborating Centre for Women's and Children's Health, 2004).

O hipertireoidismo ocorre na Doença de Graves ou Tireoidite de Hashimoto (Hashitoxicose). Sempre que a glicémia é difícil de controlar, em doentes com DMT1, o hipertireoidismo deve ser considerado, principalmente quando simultaneamente há perda de peso, palpitações, intolerância ao calor, aumento do tamanho da tiroide e sinais oftalmológicos. Analiticamente a TSH encontra-se frenada, com uma elevação de T3 e T4. O autoanticorpo presente é o recetor da TSH (TRABS).

No hipertireoidismo o metabolismo basal está aumentado, pelo que as necessidades de glicose são maiores. Assim, há estimulação da gluconeogénese, glucogenólise, redução da sensibilidade à insulina, aumento da lipólise e absorção da glicose, culminando numa deterioração do estado metabólico. A terapêutica utilizada no hipertireoidismo é Carbimazol, Metimazol, Radioiodina e propranolol (se taquicardia).

A prevalência de hipertireoidismo em DMT1 é menor do que o hipotireoidismo, mas superior à população geral.

3.1. EPIDEMIOLOGIA

A prevalência da DTA na DMT1 é 2-4 vezes mais elevada do que na população geral, sendo a Tireoidite de Hashimoto a apresentação mais frequente. Na população pediátrica, em geral, a prevalência de autoanticorpos tiroideus é cerca de 2,9-4,6%, enquanto que nas crianças e adolescentes com DMT1 a prevalência é de 12,1-23,4%. Na população adulta, em geral, a prevalência de autoanticorpos anti-tiroideus é de 6,6-14%, enquanto que nos adultos com DMT1 a prevalência é de 20,40% (Kakleas et al., 2015b; Kordonouri O, Klinghammer A, Lang EB, Gruters-Keslich A, Grabert M, 2002). Na DMT1 a prevalência de anticorpos anti-tiroideus aumenta com a idade e com o tempo de duração da diabetes desde o início do diagnóstico. A faixa etária em que a prevalência parece ser mais elevada é entre os 14 e 15 anos. A prevalência destes autoanticorpos também parece ser mais elevada quando o diagnóstico da DMT1 foi realizado há 3,5- 4 anos.

A elevação dos anticorpos anti-tiroideus é também influenciada pelo género. Adolescentes do sexo feminino têm uma probabilidade de desenvolver autoanticorpos anti-TPO 3 vezes superior, comparativamente com os adolescentes do sexo masculino. Alguns estudos mostram que o estradiol acelera a doença autoimune por interferir com as células T helper tipo 2, mas os androgéneos parecem ter um efeito protetor (Dayan C M; Daniels G H, 1996; Landin-Olsson M, Karlsson A, Dahlquist G, Blom L, Lernmark A, 1989). Uma possível explicação prende-se com o facto de ser entre os 14 e 15 anos que as hormonas femininas começam a elevar-se devido à regulação do ciclo menstrual.

A prevalência do hipotireoidismo subclínico é maior nas crianças com DMT1, com cerca de 4 a 18%, comparativamente com a população geral (5-10%). A prevalência do hipertireoidismo devido a Doença de Graves ou à Tireoidite de Hashimoto (Hashitoxicose) é de 1,5 a 4%, menor que o hipotireoidismo clínico, mas mesmo assim, maior que na população geral.

3.2. GENÉTICA

Os doentes com DMT1 que desenvolvem hipertiroidismo parecem estar associados aos seguintes haplótipos: HLA DQA1*0301; DQ B1*0301; DQB1*0201. O haplótipo associado ao hipotiroidismo é: HLA DQA1*0501. Enquanto o haplótipo DQB1*05 parece ter um efeito protetor contra o desenvolvimento de tiroidite autoimune.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Tal como referido anteriormente, os dados sobre a taxa de prevalência e incidência de doença tiroideia autoimune (DTA) em doentes portadores de DMT1, em Portugal, são ainda escassos. Assim, a presente investigação teve como principal objetivo colmatar esta necessidade, estudando esta temática em crianças e jovens seguidas no Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, durante o período de 2002 a 2019.

A presente investigação tem um desenho observacional, analítico e transversal. A técnica de amostragem utilizada é não probabilística por conveniência, correspondente à população alvo identificável ou população acessível.

4.1. SELEÇÃO DA AMOSTRA

A amostra é constituída pelas crianças e jovens com diagnóstico de DMT1 seguidos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica de Diabetes e Crescimento, do Serviço de Pediatria Ambulatória - do hospital pediátrico CHUC.

4.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Doentes com diagnóstico de DMT1, com monitorização dos níveis de TSH de acordo com os valores de referência para a idade (de 1 a 4 anos, 0,4 - 7,0 mU/L, dos 6-12 anos 0,4-6 mUI/L, > aos 12 anos 0,4-4,2 mUI/L), dos Anticorpos anti-tiroperoxidase (ATPO) >35UI/ml, dos Anticorpos anti-tireoglobina > 40 U/ml e do anti recetor da TSH (TRABS), desde que a TSH esteja frenada, com valores de referência >1,5 UI/L e/ou doentes medicados com hormonoterapia de substituição ou tionamidas.

4.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Doentes que não aceitaram participar no estudo, doentes em que a classificação da patologia não se encontre de acordo com a classificação da ADA, casos de DMT2, MODY (Maturity Onset Diabetes of Young), diabetes gestacional ou doentes com informação diagnóstica insuficiente. Foram excluídos da fase de monitorização os doentes com DTA prévia, que não realizam consultas de seguimento ou sem estudos laboratoriais de DTA durante o período do estudo.

4.4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS SOBRE A INVESTIGAÇÃO

Todos os doentes selecionados para o estudo prospetivo foram informados e esclarecidos sobre os objetivos da investigação e forneceram o consentimento informado, livre e esclarecido por escrito. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do CHUC. Considerando a idade dos doentes que participaram nesta investigação foi igualmente obtido o consentimento do representante legal do menor.

A confidencialidade dos dados e anonimato dos participantes foram totalmente assegurados.

4.5. DESCRIÇÃO DOS INSTRUMENTOS

Software Clinidata XXI

Pesquisa parametrizada para identificação dos doentes com DMT1, seguidos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica de Diabetes e Crescimento – Hospital Pediátrico, CHUC e posterior identificação dos doentes com DMT1 com e sem critérios laboratoriais de DTA.

Processo Clínico Eletrónico

Levantamento de dados sobre variáveis sociodemográficas dos doentes com DMT1 – idade, sexo, data de nascimento, data e idade do diagnóstico da DMT1 e da DTA. Monitorização do IMC, glicémia média de 14 dias, HbA1c, dos doseamentos das Hormonas Tiroideias (TSH

e T4 livre), da Hemoglobina Glicada (HbA1c), dos Anticorpos de Langerhans, IAA, IA2A, GADA e Znt8A, dos anticorpos Tiroideus: anti-tiroperoxidase (ATPO), anti-tireoglobina, anti-recetor da TSH (TRABS), se TSH estiver frenada, e ecografia da Tireoide quando ATPO forem positivos, durante o período do estudo.

4.6. PROCEDIMENTOS

Os procedimentos efetuados foram, numa primeira fase, realizados através de um estudo retrospectivo com a finalidade de identificar os doentes portadores de DMT1 seguidos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica de Diabetes e Crescimento do CHUC. Destes doentes pretendeu-se identificar quais têm marcadores compatíveis com Doença Tiroideia Autoimune (DTA), através da informação disponibilizada no processo clínico eletrónico e no *software* Clinidata XXI. Realizámos uma colheita de dados retrospectiva deste grupo de doentes com DMT1, sobre a idade, o sexo, a data de nascimento, a data e idade do diagnóstico da DMT1 e da DTA. Na consulta anual registámos ainda o peso, a altura, o IMC, a glicémia média dos últimos 14 dias (é mais útil do que um valor isolado da glicémia para avaliação do controlo glicémia). Relativamente ao presente trabalho, optámos por utilizar a glicémia média dos últimos 14 dias para avaliação do controle metabólico para além da HbA1c.

Colhemos amostras de sangue venoso para o doseamento da hemoglobina glicada (HbA1c), da hormona estimuladora da tiroide (TSH), da T4 livre (T4L), anticorpo anti-tiroperoxidase (ATPO), antirecetor da TSH (TRABS), sempre que a TSH estiver frenada e ecografia da tiroide quando ATPO for positivo. Foram monitorizados também os anticorpos da DMT1, o antitransportador do zinco T8 (ZnT8A), a anti-insulina (IAA), a antiproteína tirosina fosfatase like (IA2A) e a anti descarboxilase do ácido glutâmico (GADA).

Optamos por testar a nossa amostra pela primeira vez para o anticorpo ZnT8 porque este anticorpo tem uma especificidade de 99% e uma sensibilidade de 72% para DMT1 recente e porque os doentes com DMT1, com GADA e ZnT8A, têm maior risco de desenvolver tiroidite autoimune. No entanto a recolha de amostras para o doseamento de anticorpos Anti-ZnT8 iniciou-se em dezembro de 2019 e foi largamente afetada pela situação de

pandemia e respetivo estado de emergência. Assim, foram colhidas amostras de sangue a apenas 69 crianças e até ao momento em que fizemos a recolha dos dados, só obtivemos 38 resultados.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos dados foi utilizado o *software* estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, v.24). Na descrição da amostra foram efetuadas análises descritivas com o objetivo de descrever e sistematizar todos os dados obtidos, nomeadamente através de frequências absolutas e relativas, medidas de tendência central e medidas de dispersão. Recorreu-se à estatística paramétrica e não paramétrica, nomeadamente a utilização do teste T de *Student* para comparação entre médias, teste qui-quadrado (χ^2) e para correlacionar variáveis quantitativas utilizámos a Correlação de Pearson. Considerou-se o intervalo de confiança a 95% e os resultados estatisticamente significativos com uma significância inferior a 5% ($p < 0,05$). Estimou-se a incidência e prevalência de DAT em doentes com DMT1, de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\text{Taxa de Incidência (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de novos casos que desenvolveram DTA em DMT1 em 2019}}{\text{n}^\circ \text{ de doentes total com DMT1 em 2019}} \times 100$$

$$\text{Taxa de Prevalência (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de DTA de 2002 a 2018}}{\text{n}^\circ \text{ de doentes total DMT1 entre 2002 e 2018 (n)}} \times 100$$

5. RESULTADOS

Inicialmente a amostra do estudo foi de 262 pacientes, acompanhados na Unidade de Endocrinologia Pediátrica de Diabetes e Crescimento do CHUC. No entanto, a amostra final foi de 241, uma vez que foram excluídos 21 pacientes por apresentarem dados incompletos no processo eletrônico, o que inviabilizou a sua participação. Tal como apresentado na tabela 3, dos 241 sujeitos, 132 (54,8%) são do gênero masculino e 109 (45,2%) do gênero feminino.

Tabela 3- Caracterização da amostra por gênero

	Frequência	Porcentagem	Porcentagem acumulada
Masculino	132	54,8	54,8
Feminino	109	45,2	100
Total	241	100	

Tabela 4- Estatística descritiva das variáveis em estudo

	N	Mín.	Máx.	M	DP
Idade Atual (anos)	241	4,23	18,96	13,96	3,61
PESO (Kg)	241	15,00	103,00	51,66	18,12
ALTURA (cm)	241	96,00	195,00	153,95	18,55
IMC (Kg/m ²)	241	14,10	41,06	21,00	3,97
HbA1c (mmol/mol)	241	5,40	11,80	7,73	1,12
Glicemia média 14 dias (gr/l)	241	96,00	324,00	176,75	38,94
TSH 0,45-4,5 (mIU/l)	241	0,01	150,10	2,95	10,03
T4 0,9-1,37 (ng/dl)	241	0,60	2,20	0,98	0,20
IAA (U/ml)	241	0,20	712,88	31,14	69,63
Nº vezes que o valor de GADA é >. ao limite máximo.	241	0,00	200,10	4,22	18,92
Nº de vezes que o valor de IA2A é >. ao limite máximo.	117	0,03	34,25	2,62	5,52
N válido (de lista)	117				

Legenda: Min. = valor mínimo; Máx. = valor máximo; M = média; DP = desvio padrão

A média de idade foi de 13,96 anos ($DP = 3,61$), o peso médio foi de 51,66 Kg ($DP = 18,12$), a altura média foi de 153,95 cm ($DP = 18,55$), o IMC médio foi de 21,00 Kg/m² ($DP = 3,97$), HbA1C foi de 7,73 mmol/mol ($DP = 1,12$), a glicemia média de 14 dias foi de 176,75 gr/l ($DP = 38,94$), o valor médio da TSH foi de 2,95 mIU/l ($\pm 10,03$), o valor médio da T4 foi de 0,98 ng/dl ($DP = 0,20$), o valor médio do IAA foi 31,14 U/ml ($DP = 69,63$), o número de vezes que os anticorpos GADA e IA2A foram superiores ao limite superior da normalidade foi em média 4,22 vezes ($DP = 18,92$) e 2,62 vezes ($DP = 5,52$), respectivamente (Tabela 4).

Na tabela 5 podemos ver o grau de positividade para os anticorpos anti pancreáticos de Langerhans que as crianças e adolescentes apresentam no início do diagnóstico. A maior percentagem diz respeito a valores moderadamente positivos $n = 79$ (32,8%) e em 28,2% das crianças o anticorpo foi negativo.

Tabela 5- Grau de positividade para os anticorpos antipancreáticos de LANGERHANS

Anticorpos De Langerhans	Frequência	Percentagem	Percentagem acumulada
Negativo	68	28,2	28,2
Positivo duvidoso	9	3,7	32,0
Positivo fraco	38	15,8	47,7
Positivo moderado	79	32,8	80,5
Positivo	16	6,6	87,1
Positivo forte	31	12,9	100,0
Total	241	100,0	

Em relação ao número de anticorpos positivos, pedidos em rotina (GADA, Langerhans, IA2A, IAA), a moda da nossa amostra é de 3 anticorpos positivos e a média de 2,49 ($DP = 1$) (tabela 6).

Na tabela 7, observamos que 3 anticorpos positivos é o valor mais frequente (43,2%), seguido de 2 anticorpos que representam 24,5% da amostra. Menos frequentes são 1 anticorpo (13,7%), 4 anticorpos (13,7%) e 2,9% das crianças não apresentam qualquer anticorpo positivo.

Tabela 6- Estatística descritiva do número de anticorpos antipancreáticos e anti-insulina

	Número de Anticorpos+
N	241
Média	2,49
Moda	3,00
Desvio Padrão	1,00
Mínimo	0,00
Máximo	4,00

Tabela 7- Número de anticorpos positivos

Nº de AC positivos	Frequência	Porcentagem	Porcentagem acumulada
0	7	2,9	2,9
1	38	15,8	18,7
2	59	24,5	43,2
3	104	43,2	86,3
4	33	13,7	100,0
Total	241	100,0	

Legenda: AC- Anticorpos

Na tabela 8 verificamos que os resultados encontrados sobre o tempo médio de diagnóstico de DTM1 nos participantes do estudo é de 6,83 anos ($DP = 3,84$) e a média da idade das crianças no momento do diagnóstico é de 7,12 anos ($DP = 4,01$).

Tabela 8- Estatística Descritiva do Tempo de duração da DMT1 e idade da criança no diagnóstico

	N	Min.	Máx.	M	DP
Duração da DTM1 (anos)	241	0,64	17,56	6,83	3,84
Idade no diagnóstico DTM1 (anos)	241	0,22	17,41	7,12	4,01
N	241				

Legenda: Min. = valor mínimo; Máx. = valor máximo; M = média; DP = desvio padrão

Como podemos observar na tabela 9, 23,7% dos casos apresentam DTA (N = 57). Para calcular a prevalência da DTA considerou-se o período de 2002 até 2018. O número de doentes com DMT1, é de 232, dos quais 49 desenvolveram DTA, ou seja, a prevalência nesse período foi de $49 \times 100/232 = 21,12\%$. O número de novos casos de DTA em 2019 foi

de 8, num universo de 192 casos. A este cálculo foram retirados os 49 casos do período anterior, pelo que a incidência, em 2019, foi de 4,17%.

Tabela 9 – Frequência de DTA na amostra

	Frequência	Porcentagem	Porcentagem acumulada
Com DTA	57	23,7	23,7
Sem DTA	184	76,3	100,0
Total	241	100,0	

Examinámos a eventual relação entre a DMT1 e DTA em função do género e verificámos não existir relação estatisticamente significativa ($\chi^2 = 0,138$; $gl = 1$; $p = 0,71$) (tabela 10).

Tabela 10- Associação entre DTA e Género

		Género				Total
		M	%	F	%	
Presença de DTA	Sim	30	22,73	27	24,77	57
	Não	102	77,27	82	75,23	184
Total		132	100,00	109	100,00	241
$(\chi^2 = 0,138$; $gl = 1$; $p = 0,71$)						

Quando comparadas as médias da idade atual por grupos com e sem DTA, verificámos que a idade é superior no grupo que desenvolveu a doença e essa diferença é estatisticamente significativa ($p = 0,03$), bem como para a altura ($p = 0,01$) e IMC ($p = 0,05$). No que respeita ao peso, embora as crianças mais pesadas sejam as que apresentam DTA, essa diferença não se manifesta significativa ($p = 0,11$). Igualmente não significativas, são as diferenças entre grupos nas variáveis T4 ($p = 0,16$), HbA1C ($p = 0,32$), glicémia média dos últimos 14 dias ($p = 0,17$), número de vezes que o GADA é superior ao limite máximo ($p = 0,90$), número de vezes que o IA2A é superior ao limite máximo ($p = 0,25$) e IAA ($p = 0,62$). Adicionalmente, os níveis séricos de TSH são superiores nos doentes com DTA e revelam -se altamente significativos ($p < 0,001$) (Tabela 11).

Tabela 11 – Comparação das médias das variáveis em função de diagnóstico de DTA vs Não DTA

	Presença de DTA	N	M	DP	Teste t de Student	P
Idade Atual (anos)	Sim	57	14,86	2,81	2,19	0,03
	Não	184	13,68	3,78		
PESO (Kg)	Sim	57	54,98	14,39	1,59	0,11
	Não	184	50,63	19,05		
ALTURA (cm)	Sim	57	157,49	13,44	1,66	0,01
	Não	184	152,85	19,77		
IMC (Kg/m ²)	Sim	57	21,88	4,13	1,94	0,05
	Não	184	20,72	3,89		
HbA1c (mmol/mol)	Sim	57	7,60	0,94	- 0,10	0,32
	Não	184	7,77	1,18		
Glicemia média 14 dias (gr/l)	Sim	57	170,51	38,82	- 1,39	0,17
	Não	184	178,68	38,88		
TSH 0,45-4,5 (mIU/l)	Sim	57	7,12	20,16	3,70	< 0,001
	Não	184	1,65	0,71		
T4 0,9-1,37 (ng/dl)	Sim	57	1,02	0,30	1,42	0,16
	Não	184	0,97	0,15		
Nº de vezes que o valor de GADA é superior ao limite máximo	Sim	57	4,57	15,46	0,16	0,87
	Não	184	4,10	19,90		
Nº de vezes que o valor de IA2A é superior ao limite máximo	Sim	27	1,53	2,11	- 1,17	0,25
	Não	90	2,94	6,16		
IAA (U/ml)	Sim	57	35,10	52,45	0,50	0,62
	Não	184	29,91	74,23		

Legenda: M = média; DP = desvio padrão; p = significância estatística

No nosso estudo, a DMT1 é uma doença que apresenta uma evolução média de 6,83 anos ($DP = 3,84$), enquanto a DTA tem uma duração média de 5,15 anos ($DP = 3$) e a idade das crianças no momento do diagnóstico é menor no caso da DMT1, sendo em média 7,12 anos ($DP = 4,01$) contra 9,72 anos ($DP = 3,24$) no caso da DTA, como podemos ver na tabela 12.

Tabela 12 –Análise descritiva das variáveis “tempo de duração da doença” e “idade da criança no momento do diagnóstico”

	N	M	DP
Tempo de duração da DMT1 (anos)	241	6,83	3,84
Tempo de duração da DTA (anos)	57	5,15	3,00
Idade das crianças no momento do Diagnóstico DMT1 (anos)	241	7,12	4,01
Idade das crianças no momento do Diagnóstico de DTA (anos)	57	9,72	3,24

Legenda: M = média; DP = desvio padrão

Nas tabelas 13 e 14 são apresentadas as correlações de Pearson para avaliar a eventual associação das variáveis “Tempo de diagnóstico de DMT1” e “Tempo de diagnóstico de DTA”, bem como “Idade de diagnóstico de DMT1” e “Idade de diagnóstico de DTA”. Assim, constatamos que, quanto mais cedo foi diagnosticada a DMT1, mais cedo foi feito o diagnóstico da DTA. Isto é, as duas variáveis encontram-se associadas entre si ($r = 0,425$, $p = 0,001$; $R^2 = 18\%$). O mesmo se verificou com a idade diagnóstico entre DMT1 e DTA ($r = 0,427$, $p = 0,001$; $R^2 = 18\%$).

Tabela 13 – Correlação entre o tempo de diagnóstico de DMT1 e DTA

		Tempo de diagnóstico de DTA
Tempo de diagnóstico de DMT1	R	0,425**
	P	0,001
	N	57

Tabela 14 – Correlação entre a idade de diagnóstico de DMT1 e DT

		Idade de diagnóstico de DTA
Idade de diagnóstico de DMT1	R	0,427**
	P	0,001
	N	57

Das 57 crianças que desenvolveram DTA 50,9% (N = 29) têm Tiroidite de Hashimoto, 31,6% (N = 18) apresentam hipotireoidismo subclínico, 8,8% (N = 5) manifestam hipotireoidismo e o hipertireoidismo surgiu em 8,8% (N = 5) dos doentes (tabela 15). Três crianças tomam

levotiroxina, duas por hipotireoidismo e a outra, por Tireoidite de Hashimoto. Dos cinco doentes com hipertireoidismo, um apresenta Doença de Graves com TRABS positivo. O TRABS foi avaliado ainda em mais duas crianças com hipertireoidismo, um com valores positivos e o outro com valores negativos. Têm tireoide palpável onze crianças, das quais, sete tinham DTA e quatro ainda não apresentavam critérios laboratoriais da doença. A imagem ecográfica foi solicitada apenas em quatro crianças com hipertireoidismo.

Tabela 15 - Tipo de patologia tiroideia

	Frequência	Percentagem	Percentagem acumulada
Tireoidite de Hashimoto	29	50,9	50,9
Hipotireoidismo subclínico	18	31,6	82,5
Hipotireoidismo	5	8,8	91,2
Hipertireoidismo	5	8,8	100,0
Total	57	100,0	

Neste trabalho procurámos identificar se algum dos anticorpos que surgem na DMT1, estaria implicado com a elevação sérica de ATPO, utilizando a correlação de Pearson. Não encontramos qualquer correlação significativa. No entanto, correlacionando os anticorpos entre si e com o número de anticorpos positivos, verificámos que quanto maior fosse a elevação dos anticorpos de langerhans, maior seria a probabilidade de terem um maior número de anticorpos positivos ($p < 0,001$) (tabela 16).

Tabela 16- Correlação entre os anticorpos GADA, Langerhans, IA2A, IAA, ATPO e o nº de anticorpos

		ATPO	Nº de vezes que o valor de GADA é Sup. ao limite Max	NºAC+	AA-LANGERHANS	Nº de vezes que o valor de IA2A é Sup. ao limite Max.	IAA
ATPO	R		0,009	-0,005	0,12	-0,29	0,10
	P		0,95	0,97	0,38	0,14	0,48
	N		57	57	57	27	57
Nº de vezes que o valor de GADA superior ao limite máximo	R			0,01	0,23	-0,07	-0,04
	P			0,48	0,09	0,74	0,77
	N			57	57	27	57

Tabela 16 (continuação)- Correlação entre os anticorpos GADA, Langerhans, IA2A, IAA, ATPO e o nº de anticorpos

		ATPO	Nº de vezes que o valor de GADA é Sup. ao limite Max	NºAC+	AA-LANGERHANS	Nº de vezes que o valor de IA2A é Sup. ao limite Max.	IAA
NºAC+	R				0,43**	0,22	0,23
	P				0,001	0,27	0,08
	N				57	27	57
AA-LANGERHANS	R					0,13	0,07
	P					0,52	0,58
	N					27	57
Nº de vezes que o valor de IA2A é superior ao limite máximo	R						-0,20
	P						0,31
	N						27
** A correlação é significativa ao nível 0,01							

Dos 38 indivíduos 24 são do género masculino (63,2%) e 14 (36,8%) são do género feminino. Nas crianças com este anticorpo positivo, mantem-se maior prevalência para o género masculino (N = 10) comparativamente com o género feminino (N = 6), não sendo essa associação estatisticamente significativa. (tabela 17 e 18).

Tabela 17- Caracterização da amostra por género

		Frequência	Percentagem	Percentagem acumulada
Válido	M	24	63,2	63,2
	F	14	36,8	100,0
	Total	38	100,0	

Tabela 18- Distribuição do género em função da positividade do anticorpoZnT8

		Género		Total
		M	F	
ZNT8	Negativo	14	8	22
	Positivo	10	6	16
Total		24	14	38
$(\chi^2 = 0,005; gl = 1; p = 0,94)$				

A idade média das crianças foi de 14,22 anos ($DP = 3,12$), o peso médio foi de 55,22 Kg ($DP = 17,68$), a altura média foi de 158,40 cm ($DP = 16,45$), o IMC médio foi de 21,43 kg/m² ($DP = 17,68$).

= 4,19), o valor médio da HbA1C foi de 7,66 mmol/mol ($DP = 1,12$), a glicemia média de 14 dias foi de 169,34 gr/dL ($DP = 37,34$), o valor médio da TSH foi de 2,15 uUI/mL ($DP = 1,91$), o valor médio da T4 foi de 0,94 ng/dL ($DP = 0,19$), o valor médio do IAA foi 17,40 U/ml ($DP = 19,63$), o número de vezes que os anticorpos GADA e IA2A foram superiores ao limite superior da normalidade foi em média 11,88 vezes ($DP = 39,53$) e 3,00 vezes ($DP = 7,40$) respectivamente, (tabela 19 e 20).

Tabela 19- Estatística Descritiva da amostra

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Idade Atual (anos)	38	8,50	18,77	14,22	3,12
Peso (Kg)	38	23,40	101,00	55,22	17,68
Altura (cm)	38	118,50	186,00	158,40	16,45
IMC (Kg/m ²)	38	14,68	31,28	21,43	4,19
HbA1c (mmol/mol)	38	5,40	10,70	7,66	1,15
Glicemia media 14 (gr/L)	38	103,00	236,00	169,34	37,34
TSH 0,45-4,5 (mIU/l)	38	0,01	8,69	2,15	1,91
T4 0,9-1,37 (ng/dL)	38	0,70	1,80	0,94	0,19
N	38				

Tabela 20- Estatística Descritiva relativamente aos anticorpos

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Nº de vezes que o valor de GADA é superior. ao limite máximo	38	0,0	200,1	11,88	39,53
Nº de vezes que o valor de IA2A é superior ao limite máximo	21	0,15	34,25	3,00	7,40
IAA (U/ml)	38	0,20	94,80	17,40	19,640
N	21				

Como podemos observar através da tabela 21, das 16 crianças com anticorpos Anti-ZnT8 positivos, apenas 4 desenvolveram DTA.

Tabela 21- Associação entre a positividade para o anticorpo ZnT8 e a presença de DTA

		PRESENÇA DE DTA		Total
		Sim	Não	
ZNT8	Negativo	10	12	22
	Positivo	4	12	16
Total		14	24	38

6. DISCUSSÃO

Após a análise dos resultados apresentamos neste capítulo algumas considerações e principais discussões que consideramos relevantes. Assim, relativamente à prevalência da DMT1 por género, os resultados do nosso estudo vão ao encontro de outros estudos, isto é, a prevalência do género masculino é superior quando comparada com o género feminino (Diaz-Valencia PA, Bougnères p, 2015).

A idade média no momento do diagnóstico é aos 7,12 anos ($DP = 4,01$), concordante com os últimos estudos em que o grupo etário com maior incidência de DMT1 ocorre na faixa etária dos 5-7 anos ou na puberdade (Atkinson et al., 2014; DiMeglio et al., 2018; Stenberg, 2015).

Na população pediátrica, em geral, a prevalência de anticorpos anti tiroideus é cerca de 2,9-4,6%, enquanto que nas crianças e adolescentes com DMT1 a prevalência é de 12,1-23,4% (Kakleas et al., 2015b), o que é concordante com o nosso estudo. A prevalência de DTA na nossa amostra de 2002 a 2018 foi 21,12%, sendo este o primeiro estudo da prevalência de DTA em crianças com diabetes em Portugal. Os resultados relativos ao estudo da incidência em 2019, demonstram um valor de 4,17%. Face a estes valores torna-se, pois, fundamental avaliar o processo de quantificação desta patologia, apostando em estudos de natureza longitudinal e de vigilância epidemiológica.

Na literatura, a DTA é 2 a 4 vezes mais prevalente no sexo feminino e na puberdade (14-15 anos), com a elevação das hormonas femininas nesta faixa etária, enquanto que na DMT1 é o sexo masculino o mais frequente. No presente estudo, apesar do valor relativo em percentagem, do género feminino com DTA, ser maior, em valores absolutos o género masculino é mais prevalente quer nas crianças que desenvolveram DTA e DMT1, quer nas crianças que apenas têm DMT1. Consideramos que uma eventual explicação possa estar associada à população do estudo, uma vez que o Hospital Pediátrico de Coimbra, até 2011, só dava assistência médica a crianças com idade inferior a 12 anos. No entanto, podemos verificar que a associação não é estatisticamente significativa ($\chi^2 = 0,138$; $gl = 1$; $p = 0,71$). Desta feita, não havendo associação entre as referidas patologias não prosseguimos para a avaliação de medidas de associação mais robustas, como é o caso do *odds ratio*.

No presente estudo constatámos que as crianças com DMT1 e DTA são mais velhas do que crianças apenas com DMT1 ($p < 0,03$), são crianças mais altas ($p < 0,01$), com maior IMC ($p < 0,05$) e com valores séricos superiores de TSH ($p < 0,001$). A elevação de TSH corresponde a um hipotireoidismo que é mais prevalente do que o hipertireoidismo na DTA, estando os níveis séricos desta hormona relacionados com a duplicação dos níveis de autoanticorpos contra a tiroide.

Nos resultados encontrados verificamos que a DMT1 é uma doença que apresenta uma evolução média de 6,8 anos ($DP = 3,84$), enquanto a idade média da DTA tem uma duração 5,15 anos ($DP = 3,00$) e a associação entre elas revelou-se estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Na nossa amostra a DTA aparece em cerca de 2 anos após o diagnóstico de DMT1, enquanto algumas investigações referem que o intervalo de tempo entre os dois diagnósticos é de 3,5 - 4 anos. Esta diferença pode ter origem no facto de a idade média da nossa população ser inferior à dos referidos estudos. A idade das crianças no momento do diagnóstico é menor no caso da DMT1 ($p < 0,001$), sendo estas diferenças significativas e em concordância com a literatura já que a prevalência de anticorpos anti tiroideus aumenta com a idade e com o tempo de diagnóstico da DMT1 (Kakleas et al., 2015a). Este aspeto foi demonstrado pela Correlação Linear de Pearson.

Após terem sido feitas análises correlacionais entre ATPO e os anticorpos pancreáticos e anti insulínicos, esta associação não se manifestou significativa. Alguns estudos referem que doentes com anticorpos GADA e ZnT8 positivos têm maior risco de desenvolverem DTA (Kakleas et al., 2015; Rogowicz-Frontczak et al., 2014). Provavelmente serão necessários mais estudos e um número maior de resultados nesta área. Verificámos, no entanto, que quanto maior o valor sérico dos anticorpos de Langerhans maior a probabilidade de desenvolverem um maior número de outros anticorpos.

A maioria das crianças com DTA 50,9%, ($N = 29$), tem tiroidite de Hashimoto e esta apresentação clínica é a mais frequente em crianças com DMT1, tal como é confirmado pela literatura (Kakleas et al., 2015).

Em relação aos dados dos anticorpos ZNT8, a recolha de amostras para o doseamento de anticorpos Anti-ZnT8 iniciou-se em dezembro de 2019 e, tal como referido anteriormente, pela situação pandémica em que vivemos, consideramos que os resultados foram

insuficientes. Assim, apenas foram colhidas amostras de sangue a 69 crianças e até ao momento em que fizemos a recolha dos dados, obtivemos apenas 38 resultados, o que não nos permite retirar ilações tão fidedignas quanto desejaríamos.

7. CONCLUSÃO

Em suma, o estudo da prevalência da DTA na DMT1 permitiu concluir que entre 2002-2018 foi de 21,12%, isto é, superior à população em geral (Kakleas et al., 2015a). A incidência em 2019 foi de 4,17%. Os dados não são animadores pelo que a necessidade de investigação na área da epidemiologia da diabetes em crianças e jovens se torna essencial. Para tal, a representatividade da amostra, bem como a adequação de um *design* de investigação longitudinal ou eventualmente um estudo de caso controlo possam contribuir com mais rigor para esta temática. Sabe-se que a sintomatologia é inespecífica e insidiosa, pelo que o rastreio da DTA em doentes com DMT1 é fundamental para o diagnóstico precoce, evitando, por isso, complicações como o controlo glicémico difícil, alterações de crescimento, de peso, o controlo metabólico e lipídico.

O aumento do número de colheitas do anticorpo ZNT8 e os seus resultados poderão ser um procedimento francamente positivo e útil a ponderar na inclusão da avaliação da autoimunidade dos doentes com DM na criança.

7.1 LIMITAÇÕES À INVESTIGAÇÃO

A realização desta investigação colocou em evidência a situação angustiante que a comunidade científica do nosso país vive no plano burocrático, no plano financeiro e na ausência de políticas que valorizem, promovam e incentivem a investigação científica em Portugal. Essa situação levou à elaboração do manifesto ciência Portugal 2018, pela comunidade científica, onde podemos ler que apesar de já existir em Portugal um número de investigadores considerável, o financiamento dos projetos não é regular, estável, havendo ainda uma monopolização. A burocracia é muito grande e demorada quer para se aceder ao financiamento quer para se obter autorização para iniciar um projeto. Há uma ausência de renovação dos quadros com contratação de jovens cientistas pelo seu mérito. Esta triste realidade origina um desgaste, uma incerteza e frustração que leva à fuga de

“cérebros” de Portugal para outros países e castra o potencial inventivo, de inovação, de originalidade que tão bem nos caracteriza.

O processo moroso de aprovação do presente estudo, por parte do Comitê de Ética do CHUC (cerca de 10 meses), que dificultou o progresso do trabalho no tempo previsto, bem como, a legislação e a burocracia que impediram a aquisição rápida e direta dos reagentes químicos ao laboratório, para se poder prosseguir com a investigação, associados à ausência de financiamento foram imponderáveis que dificultaram a conclusão do mesmo.

O longo período a que o estudo se referiu (2002-2019), pode apresentar um enviesamento no trabalho, dada a mudança de valores de referência do laboratório relativamente aos valores séricos dos anticorpos GADA e IA2A, a mudança das rotinas anuais laboratoriais, nomeadamente do anticorpo IA2A, que só ficou disponível algum tempo depois do IAA, do GADA e dos anticorpos anti-Langerhans.

A avaliação analítica anual dos doentes em consulta, pode provocar um potencial enviesamento na incidência anual ou diminuição do número de doentes incluídos na nossa amostra. Alguns dos doentes excluídos foram internados noutros hospitais e não foram disponibilizados os anticorpos do diagnóstico.

A tardia disponibilidade dos reagentes para a realização da titulação de anticorpos ZNT8, resultou igualmente na realização tardia das análises, ou seja, só a partir dezembro de 2019, com novo revés em plena epidemia COVID-19. Durante este período, foram várias as consultas realizadas sem a presença do utente e sem realização de exames complementares de diagnóstico.

8. PERSPETIVAS FUTURAS

Este seria o primeiro de vários estudos que se poderão realizar tendo em conta a obtenção de dados da população portuguesa. Seria, por isso, interessante estendê-lo a outros centros hospitalares nacionais com o intuito de obter uma amostra representativa para extrapolar a incidência e prevalência nacional de DTA na DMT1, uma vez que não existem quaisquer estudos semelhantes em Portugal. Este é também um estudo com o potencial de ser alargado a outras doenças autoimunes relacionadas com a DMT1, como a doença celíaca ou anemia perniciosa, sem um aumento significativo de custos ou de complexidade do modelo utilizado. Seria ainda interessante, com uma amostra maior, correlacionar as variáveis quantitativas discretas e sociodemográficas obtidas no estudo com outras variáveis como o índice de massa corporal (IMC), controlo glicémico (níveis de HbA1c) e o período decorrente entre o diagnóstico DMT1 e o aparecimento de DTA. A sua presença nos doentes com DMT1, tem o potencial de afetar negativamente o crescimento, o peso, o controlo glicémico e compreender a sua associação poderá ter utilidade clínica para este grupo de doentes. Adicionalmente, estudos desta natureza poderão ser um contributo importante para melhorar a gestão e planeamento em saúde no âmbito da diabetes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA. (2018a). Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care*, 41(Supplement 1), S1–S2. <https://doi.org/10.2337/dc18-Sint01>
- ADA. (2018b). Standards of Medical Care in Diabetes 2018. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*, 41(January).
<https://doi.org/10.4324/9781315720739.ch39>
- ADA. (2019). Standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1).
<https://doi.org/10.2337/dc14-S014>
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)
- Barreto, Marta;Gaio, Irina Kislava; Antunes, Li. et al. (2016). *com Exame Físico ° Inquérito Nacional de Saúde Estado de Saúde*. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, INSA,IP.
- Blanchin S, Estienne V, Durand-Gorde JM, Carayon P, R. J. (2003). Complement activation by direct C4 binding to thyroperoxidase in Hashimoto's thyroiditis. *Endocrinology*, 144(12), 5422–5429. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0918>
- Bonita, R. (2006). Basic Epidemiology. *World Health Organization*.
- Brogan P.A., D. M. S. (2005). autoimmune diseases in children. *Current Paediatrics*, 23–31.
- C. Neves, J.S. Neves, S. Castro Oliveira, A. Oliveira, D. C. S. (2017). Diabetes Mellitus tipo 1. *Revista Portuguesa de Diabetes.*, 1(12 (4)), 159–167.
- Capo A, P. A. (2013). Prevalence of polyglandular immune syndrome type IIIauto in a group of adults with thyroid diseases and diabetes mellitus:575-81.o Title. *Eur Sci J.*, 575–581. <https://doi.org/10.1111/ced.12984>.
- Davies JL, Kawguchi y, Bennett ST, C. J. et al. (1994). Genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature*, 371, 130–136.
- Dayan C M; Daniels G H. (1996). Chronic autoimmune thyroiditis. *N Engl J Med.*, 335 (2), 99–107. <https://doi.org/10.1056/NEJM199607113350206>

- De Goffau, M. C., Luopajarvi, K., Knip, M., Ilonen, J., Ruotula, T., Härkönen, T., ... Vaarala, O. (2013). Fecal microbiota composition differs between children with β -cell autoimmunity and those without. *Diabetes*, 62(4), 1238–1244.
<https://doi.org/10.2337/db12-0526>
- DGS. (2011). Norma dgs. <https://www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes/circulares-normas-e-orientacoes/norma-da-direccao-geral-da-saude-n-0022011-de-14012011-pdf.aspx>
- DGS, Sociedade Portuguesa de Diabetologia, P. nacional de prevenção e controlo da diabetes. (2009). Diabetes Factos e números 2009 Portugal, relatório anual.
- Diaz-Valencia PA, Bougnères p, V. A. (2015). Global Epidemiology of 1 type diabetes in young adults and adults: a systematic review. *BMC Public Health*, (15), 255.
- DiMeglio, L. A., Evans-Molina, C., & Oram, R. A. (2018). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 391(10138), 2449–2462. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31320-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31320-5)
- Eiraa, C., & , Ângela Motaa , Rachel Silvérioa , Rita Monteiroa , Marina Bastosa, A. M. (2017). polyglandular_autoimmune_syndrome_type_iii_file (1). *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab. ;12(2):2020170-205 Revista Revista*, 200–205.
- Eisenbarth GS, L. K. (2005). *Type 1 diabetes: cellular, molecular and clinical immunology*. Disponível em: <http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/books.html>.
- Genuth S. Hormones of the pancreatic islets. Physiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 1998.
- Gonçalves, C. (2007). Imunogenética da Diabetes Tipo 1. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 2(4), 14–21.
- Hakola L, Takkinen HM, Niinistö S, Ahonen S, Nevalainen J, Veijola R, Ilonen J, Toppari J, Knip M, V. S. (2018). Infant feeding in relation to the risk of advanced islet autoimmunity and type 1 diabetes in children with increased genetic susceptibility: a cohort study. *Am. J. Epidemiol.*, Jan 1;187(, 34–44.
<https://doi.org/10.1093/aje/kwx191>.
- Hussen, H. I., Moradi, T., & Persson, M. (2015). The risk of type 1 diabetes among offspring of immigrant mothers in relation to the duration of residency in Sweden. *Diabetes Care*, 38(5), 934–936. <https://doi.org/10.2337/dc14-2348>

- Ilonen, J., Lempainen, J., & Veijola, R. (2019). The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, *15*(11), 635–650.
<https://doi.org/10.1038/s41574-019-0254-y>
- Jahromi MM, E. G. (2007). Cellular and molecular pathogenesis of type 1A diabetes. *Cell Mol Life Sci.*, *64*(7-8), 865-72. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6469-4>.
- Jameson, JL; weetman, AP; Braunwald E, Fauci AS, K., & AL, E. (2001). *Distúrbios da glândula Tiroide, in Harrison Medicina Interna. Harrison Medicina Interna* (Mc Graw Hi).
- Kakleas, K., Soldatou, A., Karachaliou, F., & Karavanaki, K. (2015a). Associated autoimmune diseases in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM). *Autoimmunity Reviews*. Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.05.002>
- Kakleas, K., Soldatou, A., Karachaliou, F., & Karavanaki, K. (2015b). Associated autoimmune diseases in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM). *Autoimmunity Reviews*, *14*(9), 781–797.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.05.002>
- Kordonouri, O., Shuga, N., Lewy, H., Ashkenazi, I. & Laron. (2002). Seasonality of month of birth of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus in Berlin differs from the general population. *Eur. J. Pediatr.*, *161*, 291–292.
- Kordonouri O, Klinghammer A, Lang EB, Gruters-Keslich A, Grabert M, H. R. (2002). Thyroid autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, *25*(8), 1346–50.
- Kroghvold, L. et al. (2015). Detection of a low- grade enteroviral infection in the islets of Langerhans of living patients newly diagnosed with type 1 diabetes. *Diabetes*, *64*, 1682–1687.
- Landin-Olsson M, Karlsson A, Dahlquist G, Blom L, Lernmark A, S. G. (1989). Islet cell and other organ-specific autoantibodies in all children developing type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in Sweden during one year and in matched control children. *Diabetologia*, *32*(6), 387–95.

- London: RCOG Press,(UK), National Collaborating Centre for Women's and Children's Health, N. I. for C. E. (2004). *Type 1 Diabetes: Diagnosis and Management of Type 1 Diabetes in Children and Young People*.
- Neufeld, M; Maclaren, N.; Blizzard, R. (1980). Autoimmune Polyglandular Syndromes. *Pediatric Annals*, 9(4), 43–53. Retrieved from <https://doi.org/10.3928/0090-4481-19800401-07>
- Noble JA. (2015). Immunogenetics of type 1 diabetes: A comprehensive review. *J Autoimmun.*, 64, 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.07.014>.
- Norris, J. M. et al. (2018). Plasma 25-hydroxyvitamin D Diabetes, concentration and risk of islet autoimmunity. *Diabetes*, 67, 146–154.
- Observatório da diabetes. (2017). Diabetes: Factos e Números-Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 12(1), 40–48. <https://doi.org/ISBN:978-989-96663-1-3>
- Observatório da diabetes. (2016). *Diabetes: Factos e Numeros ano 2015. Relatório anula do observatório nacional de diabetes*.
- Oilinki, T., Otonkoski, T., Ilonen, J., Knip, M. & Miettinen. (2012). Prevalence and characteristics of Adolescents, diabetes among Somali children and living in Helsinki, Finland. *Pediatr. Diabetes*, 13, 176–180.
- Perrett KP, Jachno K, Nolan TM, H. L. 2019 M. 1;173(3):280-282. E. in: J. P. 2019 J. 15;: (2019). Association of Rotavirus Vaccination With the Incidence of Type 1 Diabetes in Children. *JAMA Pediatr.*, 1;173(3), 280–282. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1001%2Fjamapediatrics.2018.4578>
- Rogers, M. A. M., Basu, T., & Kim, C. (2019). Lower Incidence Rate of Type 1 Diabetes after Receipt of the Rotavirus Vaccine in the United States, 2001–2017. *Scientific Reports*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44193-4>
- Rogowicz-Frontczak, A., Zozulińska-Ziółkiewicz, D., Litwinowicz, M., Niedźwiecki, P., Wyka, K., & Wierusz-Wysocka, B. (2014). Are zinc transporter type 8 antibodies a marker of autoimmune thyroiditis in non-obese adults with new-onset diabetes? *European Journal of Endocrinology*, 170(4), 651–658. <https://doi.org/10.1530/EJE-13-0901>

- Roivainen, M., Ylipaasto, P., Savolainen, C., Galama, J., Hovi, T., & Otonkoski, T. (2002). Functional impairment and killing of human beta cells by enteroviruses: The capacity is shared by a wide range of serotypes, but the extent is a characteristic of individual virus strains. *Diabetologia*, *45*(5), 693–702. <https://doi.org/10.1007/s00125-002-0805-x>
- Sharp, S. A., Weedon, M. N., Hagopian, W. A., & Oram, R. A. (2018). Clinical and research uses of genetic risk scores in type 1 diabetes. *Current Opinion in Genetics and Development*, *50*, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.03.009>
- Silva, M. E. R. da, Mory, D., & Davini, E. (2008). Marcadores genéticos e auto-ímmunes do diabetes melito tipo 1: da teoria para a prática. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, *52*(2), 166–180. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302008000200004>
- STANLEY, H., & NORRIS, J. M. . (2004). Is Presence of Islet Autoantibodies at Birth Associated With Development of Persistent Islet Autoimmunity ?Diabetes, The Study, Autoimmunity Daisy, Young. *Diabetes Care*, *27*(2), 497–502.
- Stenberg, D. (2015). Type 1 diabetes Mark. *Acta Vet Scand Suppl*, *85*(9911), 21–28. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7.Type](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7.Type)
- Vaiserman, A. M. et al. (2007). No Seasonality of birth in children and young adults (0-29 years) with type 1 diabetes in Ukraine. *Diabetologia*, *50*, 32–50.
- Vatanen, T. et al. (2016). Variation in microbione LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell*, *155*1, 165.
- Wägner, Ana; Santana Ângelo; Hernández, M. (2011). Diabetes Genetics Consortium (T1DGC). *Diabetes Metab Res ReV*, *27*(5), 493–498. <https://doi.org/10.1002/dmrr.1189.Predictors>
- Willcox A, Richardson SJ, Bone AJ, Foulis AK, M. N. (2009). Diabetes., Analysis of islet inflammation in human type 1. *Clin Exp Immunol*, *155*, 173–81.
- WHO. (2020). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Ziegler AG, Rewers M, Simell O, et al. in, & ; (2013). Seroconversion to multiple Children., islet autoantibodies and risk of progression to diabetes. *JAMA*, *309*., 2473–79.

