

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

**Dissertação de Mestrado**

**ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DO ANTICORPO ANTI-DESCARBOXILASE DO  
ÁCIDO GLUTÂMICO (ANTI-GAD) COMO MARCADOR DE AUTO-IMUNIDADE  
NO DIABETE MELITO**

Jorge de Faria Maraschin

Porto Alegre, Novembro de 2007

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

**ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DO ANTICORPO ANTI-DESCARBOXILASE DO  
ÁCIDO GLUTÂMICO (ANTI-GAD) COMO MARCADOR DE AUTO-IMUNIDADE  
NO DIABETE MELITO**

Jorge de Faria Maraschin

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Pinho Silveiro

Co-Orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Gross

Porto Alegre, Novembro de 2007

## SUMÁRIO

Agradecimentos.....	4
Artigo 1: Artigo 1: Papel do Anticorpo Anti-descarboxilase do Ácido Glutâmico (anti-GAD) e do Peptídeo-C na Classificação do Diabete Melito.....	7
Artigo 2: Acurácia Diagnóstica do Anticorpo Anti-Descarboxilase do Ácido Glutâmico (anti-GAD) como Marcador de Auto-Imunidade no Diabete Melito.....	33

## AGRADECIMENTOS

- Aos pacientes e indivíduos controles, pela colaboração e disposição em dar sua contribuição à ciência.
- Aos médicos residentes e contratados do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), por sua gentileza e por tornarem possível a avaliação de seus pacientes, fornecendo informações necessárias ao estudo.
- Às alunas de iniciação científica, Nádia Murussi e Vanessa Witter, por sua ajuda e colaboração, sem as quais este estudo não teria sido possível.
- Às bioquímicas Eгна Regina Rossalto e Rossana, pelo auxílio na dosagem do anticorpo anti-GAD e à Dra. Joíza Lins Camargo, chefe da Unidade de Bioquímica e Imunoensaios, pela indispensável consultoria técnica.
- Ao laboratório Santa Catarina LTDA, em Tubarão SC, pelo processamento e estoque de amostras e ao ambulatório médico de especialidades da UNISUL.
- Um agradecimento especial ao Dr Gilberto Velho, pelo auxílio fundamental no diagnóstico molecular dos tipos de MODY.
- A todos os colegas e professores do Serviço de Endocrinologia do HCPA, com quem dividi uma grande e marcante parte de minha vida acadêmica durante a graduação, residência e pós-graduação desde 1996, especialmente ao Prof. Jorge Luiz Gross, exemplo de pesquisador, professor e médico.
- À minha incrível orientadora e amiga Sandra Pinho Silveiro, com quem trabalho desde 1996, por dividir comigo minhas ansiedades, medos, frustrações e vitórias durante estes 11 anos. Seus conhecimentos e sua orientação serena e lúcida fizeram com que este trabalho fosse possível.

- Aos meus pais, por me oportunizarem uma educação exemplar e por terem vibrado com as minhas pequenas e grandes conquistas.

- À minha mulher, Fabiana Silva de Oliveira, por sua compreensão e horas roubadas de seu convívio.

Esta Dissertação de Mestrado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sendo apresentada na forma de dois manuscritos sobre o tema da Dissertação:

**1. Papel do Anticorpo Anti-Descarboxilase do Ácido Glutâmico (Anti-GAD) e do Peptídeo-C na Classificação do Diabete Melito** - Artigo de revisão geral do tema, que deverá ser submetido à publicação em periódico científico de circulação nacional;

**2. Acurácia Diagnóstica do Anticorpo Anti-Descarboxilase do Ácido Glutâmico (anti-GAD) como Marcador de Auto-imunidade no Diabete Melito** - Artigo original referente ao trabalho de pesquisa propriamente dito, que deverá ser submetido à publicação em periódico científico de circulação internacional.

**PAPEL DO ANTICORPO ANTI-DESCARBOXILASE DO ÁCIDO GLUTÂMICO  
(ANTI-GAD) E DO PEPTÍDEO-C NA CLASSIFICAÇÃO DO DIABETE MELITO**

Jorge de Faria Maraschin

Nádia Murussi

Jorge Luiz Gross

Sandra Pinho Silveiro

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Endereço correspondência:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre,

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar, 90035-003, Porto Alegre, RS.

E-mail: sandrasilveiro@terra.com.br

Fone: (51) 21018127

## Resumo

A correta classificação do tipo de DM leva mais precocemente ao tratamento adequado e atualmente é dividida em 4 categorias: DM tipo 1, DM tipo 2, Outros tipos e Diabete Gestacional. O DM tipo 1 é geralmente auto-imune, surge em geral antes dos 20 anos de idade e é dependente de insulina para impedir a cetoacidose. O DM tipo 2 é responsável por mais de 90% dos casos, acontece em geral após os 45 anos, com história familiar e associado à síndrome metabólica. Na categoria “outros tipos”, o *Maturity Onset Diabetes of the Young* (MODY) é um subtipo que inicia abaixo dos 25 anos, não-dependente de insulina e apresenta herança dominante. No entanto, apesar da classificação definir essas categorias através de características peculiares, pode existir uma sobreposição de quadros, principalmente no DM que inicia no adulto jovem. Assim, novos sistemas de classificação têm sido propostos, empregando a presença da auto-imunidade (anticorpos) e índices de função de célula  $\beta$  (peptídeo-C) para definir a patogênese e nomenclatura mais específicas. O objetivo desta revisão é descrever e analisar o desempenho destas ferramentas diagnósticas na classificação do DM. Os anticorpos evidenciam a auto-imunidade do DM 1. O IAA (*insulin auto-antibody*) está presente quando o início do DM se dá, principalmente, antes dos 5 anos de idade e o anti-GAD (*glutamic acid decarboxylase*) tem seu melhor desempenho nos indivíduos com início da doença acima dos 20 anos, sendo o teste que permanece positivo por mais tempo. A medida do peptídeo-C avalia a reserva pancreática de insulina e deve ser realizada com glicemia entre 70-200 mg/dl. A medida após estímulo é a mais estudada e  $<1,5$  ng/ml define o paciente como DM 1. O estímulo com refeição mista é o recomendado pela ADA, mas o teste com 1 mg de glucagon é mais simples e igualmente acurado. Dados em relação à utilização da classificação baseada na medida de diferentes anticorpos dirigidos ao pâncreas classificação A (anticorpos) e  $\beta$  (peptídeo-C) pode ser adotada como um método acurado, relativamente simples e preciso de classificação de DM.

UNITERMOS: anti-GAD, descarboxilase ácido glutâmico, peptídeo-C, diabete melito



## Abstract

The correct classification of DM type leads to earlier appropriate treatment and is currently divided into 4 categories: type 1 DM, type 2 DM, Other types and Gestational DM. Type 1 DM is generally autoimmune, it usually appears before the age of 20 years, and depends on insulin to prevent ketoacidosis. Type 2 DM accounts for over 90% of the cases, it usually occurs after the age of 45, with a family history and metabolic syndrome. In the category “other types”, *Maturity Onset Diabetes of the Young* (MODY) is a subtype that begins before the age of 25, is non-insulin dependent and presents a dominant heritage. However, although the classification defines these categories through peculiar characteristics, there may be superimposed pictures, especially in the case of DM which begins in the young adult. Thus, new classification systems have been proposed, using the presence of autoimmunity (antibodies) and  $\beta$  cell (C-peptide) indexes to define the pathogenesis and more specific nomenclatures. The purpose of this review is to describe and analyze the performance of these diagnostic tools in the classification of DM. The presence of antibodies show the autoimmunity of type 1 DM. IAA (insulin auto-antibody) is present mainly before the age of 5 years, and anti-GAD (glutamic acid decarboxylase) performs best in individuals who begin the disease above the age of 20, and its test remains positive longest. The C-peptide measure evaluates the pancreatic reserve of insulin and should be performed with a glycemia between 70-200 mg/dl. Post-stimulus measuring is more widely studied and  $<1.5$  ng/ml defines the patient as DM1. Stimulation with a mixed meal is recommended by ADA, but the test with 1 mg of glucagon is simpler and just as effective. Data on classification A (antibodies),  $\beta$  (C-peptide) suggest that it may be adopted as an effective, relatively simple and precise method for DM classification.

KEY WORDS anti-GAD, glutamic acid decarboxilase, C-peptide, diabetes mellitus

O Diabete Melito (DM) é uma doença prevalente, classificada como uma epidemia pela Organização mundial de Saúde (OMS). A estimativa da prevalência mundial está em torno de 4,0 % (1, 2, 3), no Brasil, de 7,6% em 1993 (4) e 9,1% na cidade de São Paulo em 2003 (5). Sua incidência vem aumentando de modo alarmante nos países em desenvolvimento, tanto em adultos quanto em adolescentes, e estima-se um aumento de 60% na prevalência na população adulta acima de 30 anos em 2025 (1), sendo de maior magnitude na faixa dos 45-64 anos (1, 2, 3). A prevalência de glicemia alterada já está aumentando no Brasil, sendo de 15,7 % segundo dados do Ministério da Saúde (6).

A correta classificação do tipo de DM leva mais precocemente ao tratamento adequado, com maior índice de sucesso na obtenção de um bom controle glicêmico, o que por sua vez comprovadamente reduz as complicações micro e macrovasculares, tanto em pacientes com DM tipo 1 (7), quanto no DM tipo 2 (8, 9, 10).

A nova classificação do DM foi inicialmente definida pela OMS (11), redefinida em publicação da Associação Americana de Diabete (ADA) de 1997 (12, 13) e reforçada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2006 (14, 15). Atualmente, o DM é dividido em 4 categorias: DM tipo 1 (DM 1), DM tipo 2 (DM 2), Outros tipos e Diabete Gestacional (13, 15) (Quadro 1).

O DM 1 é geralmente auto-imune, com destruição das células beta pancreáticas, acontece em geral antes dos 20 anos de idade e o seu tratamento envolve o uso de insulina antes de 3 a 5 anos de duração da doença para impedir a cetoacidose diabética (11). Existe um subgrupo de pacientes com DM auto-imune que se apresenta como DM 2 (sem necessidade de insulina inicialmente), acomete indivíduos mais velhos (acima de 30 anos) e tem história familiar (HF) de DM 1 ou de outras doenças auto-imunes. O índice de massa corporal (IMC) nesses casos é normal e é evidenciada etiologia auto-imune no assim denominado *Latent Autoimmune Diabetes of the Adult* (LADA) (16). Já o DM tipo 2 é responsável por mais de

90% dos casos de DM, não é auto-imune, acontece em geral após os 45 anos, em indivíduos com HF positiva e o tratamento em geral é sem o uso de insulina, que, se fizer-se necessário, deve ocorrer pelo menos 5 anos após o diagnóstico (11, 12, 13). Na categoria “outros tipos de DM”, destaca-se o *Maturity Onset Diabetes of the Young* (MODY), um subtipo que acomete indivíduos abaixo dos 25 anos, sendo caracterizado por defeito na secreção de insulina, mas sem ser dependente, e que apresenta uma herança autossômica dominante (12, 13, 17). No entanto, apesar da classificação definir todas essas categorias através de características peculiares, pode existir uma sobreposição de quadros clínicos, principalmente no DM que inicia no adulto jovem. Muitas vezes é difícil distinguir um subtipo de outro, principalmente o DM tipo 1 do MODY e do DM 2 de início precoce, sendo esse último cada vez mais frequente devido ao aumento da prevalência de obesidade e síndrome metabólica nas sociedades ocidentais (1, 2, 3). Assim sendo, novos sistemas de classificação têm sido propostos, empregando a presença da auto-imunidade (anticorpos) e índices de função de célula  $\beta$  (peptídeo-C) capazes de, não só definir a patogênese e nomenclatura mais específicas, mas sugerir formas de tratamento mais adequadas e, a longo prazo, permitir a definição da etiologia molecular dos subtipos de DM. O objetivo desta revisão é descrever e analisar o desempenho destas ferramentas diagnósticas na classificação do DM.

### **Papel dos anticorpos pancreáticos**

A auto-imunidade contra as ilhotas pancreáticas foi descrita em 1965 (18), mas a presença de anticorpos (AC) contra as ilhotas, os anticorpos anti-ilhotas (islet-cell cytoplasm antibodies; ICAs), foi demonstrada em 1974 (19). A seguir, identificou-se a existência de vários outros anticorpos: o antígeno de superfície da ilhota pancreática (Islet cell surface antibody; ISCA) (20), o anticorpo anti-descarboxilase do ácido glutâmico (Glutamic acid decarboxilase antibody; anti-GAD) (21, 22), o anti-insulina (Insulin auto-antibodies; IAA) (23) e por último o *Insulinoma Autoantigen -2* (Insulinoma like antigen; IA-2) (24). A seguir

serão descritos os diferentes tipos de anticorpos relacionados ao Pâncreas e seu desempenho no diagnóstico de pacientes com DM 1(Quadro 2).

A presença dos anticorpos denota um DM de etiologia auto-imune e, portanto, do tipo 1. As diferenças entre eles encontram-se nos diferentes métodos laboratoriais de detecção, no grau de associação entre a presença do AC e o desencadeamento do DM, sua habilidade de prever o risco de desenvolver a doença em parentes de primeiro grau e na população em geral e a necessidade de uso de insulina. Diversos métodos foram criados para a medida dos diversos ACs em colaborações internacionais para sua padronização (25-28). Como não há padronização internacional do ISCA, e praticamente não existem estudos com resultados consistentes e reprodutíveis, sua utilização é limitada à pesquisa. O ICA, anti-GAD e IA-2 possuem ensaios baseados em proteínas recombinantes que podem ser marcadas com iodo radioativo, possibilitando assim o desenvolvimento de ensaios reprodutíveis e precisos que já estão padronizados segundo normas da OMS (26). Sua sensibilidade e especificidade para diagnóstico de DM tipo 1 estão apresentados no Quadro 2.

Os anticorpos anti-ICA foram os primeiros a serem utilizados, inicialmente descritos em 1974 (19), mas sua padronização laboratorial ocorreu apenas em 1986 (29). Sua reação se dá contra todos os componentes da ilhota pancreática e ele é, na verdade, um grupo de anticorpos (31), dois identificados como sendo anti-GAD (21, 22) e o IA-2 (24). Acredita-se que outros antígenos diferentes destes existam, mas sua identificação individual ainda não foi confirmada. Existem inúmeros outros anticorpos contra as ilhotas pancreáticas e muitos outros continuam a ser descobertos. No entanto, o anti-GAD, IAA, ICA, e IA-2 são os que têm maior utilidade na prática clínica (30).

Os ICAs são bons marcadores de DM tipo 1. Sua sensibilidade varia de 70-90% (25, 26, 28). O gênero, duração da doença e títulos dos AC não são afetados nos indivíduos com início do DM tipo 1 antes dos 15-20 anos. No entanto, sua sensibilidade diagnóstica e

capacidade de predizer risco de DM tipo 1 cai marcadamente em indivíduos com início do DM 1 em idades mais avançadas, principalmente acima dos 20 anos (32-35). Sua presença é transitória, estão presentes durante a fase de pré-diabetes, quando a insulinite está presente, e durante o início do quadro clínico, mas seus títulos caem rapidamente logo após (32, 34, 35, 36). A presença do mesmo está associada à perda mais rápida da função da célula  $\beta$  pancreática (32, 49), queda mais rápida dos valores de peptídeo-C (32) e previsão de necessidade de insulina em pacientes inicialmente classificados como DM tipo 2 (32, 36, 37, 38). Sua frequência na população controle normal pode chegar até a 4%, sendo composta por pacientes com aumentos transitórios do anticorpo (32) e aqueles que mantêm ICA positivos por vários anos sem o desenvolvimento da doença (40).

Os ACs anti-insulina (IAAs) estão presentes em cerca de 50% dos pacientes com DM 1 recém diagnosticados (23), sua medida é feita atualmente por radioimunoensaio de fase simples líquida, que é melhor que o ELISA (27, 42). Sua sensibilidade no diagnóstico do DM tipo 1 é de cerca de 50-70% (34, 41, 43, 44, 45, 46, 47), não sofre efeito do gênero, mas sofre um marcado efeito da idade (34, 43, 44, 45). De modo geral, quanto maior a idade do paciente no início da doença, menor sua positividade. Sua especificidade é de 99%, mas tem valor preditivo baixo, devido a menor sensibilidade (50). Além disso, ele está presente praticamente em todos os pacientes após 2 a 3 semanas após o início do tratamento com insulina exógena (48). Constitui um bom marcador para doença pré-clínica em crianças, especialmente as com menos de 5 anos de idade (33), predizendo melhor o risco de DM em crianças do que em adultos. Sua presença também está associada a uma queda na secreção de insulina (49, 51).

O AC anti-GAD foi inicialmente descrito como uma proteína de 64 Kilodaltons, mas a clonagem permitiu sua identificação (22) e a elaboração de ensaios imuno-radiométricos para sua medida (52, 54). Existem duas isoformas de GAD (53), uma denominada GAD 65 (expressa em células beta) e outra GAD 67 (no cérebro). A função da descarboxilase do ácido

glutâmico (GAD) está expressa na Figura 1. Embora sua função primária seja a de produzir o neurotransmissor inibitório GABA, alguns autores sugerem que, na célula beta pancreática, sua função seja a de produção de adenosina trifosfato (ATP) (53, 55). A sensibilidade do AC anti-GAD para o diagnóstico de DM tipo 1 está em torno de 75-84% (52, 56, 57, 64). Existe grande diferença em sua sensibilidade de acordo com gênero (34, 58, 64) e idade do diagnóstico de DM tipo 1 (34, 57, 64). No sexo feminino, sua sensibilidade fica em torno de 80%, sem variação com idade. Já no sexo masculino, é de 50-60% abaixo dos 10 anos e 75-90% acima dessa faixa (34, 57, 58, 64). Não existe diferença entre os sexos acima dos 20 anos de idade (57). Sua especificidade chega a 98,8% (65, 66) e sua sensibilidade é melhor que ICA e IAA em adultos (34, 56, 57, 67). Em familiares de primeiro grau, a positividade do anti-GAD varia de 6-8%, similar ao risco de desenvolvimento de DM tipo 1 ao longo da vida (57, 68). Ele é mais positivo em filhos de pais com DM tipo 1 versus filhos de mães com DM tipo 1 (63). No *Diabetes Prevention Trial* (DPT-1) (59), a positividade do anti-GAD foi o marcador mais sensível de detecção de múltiplos anticorpos, com 91%. No entanto, é sabido que nenhum anticorpo isoladamente prediz de forma satisfatória o risco de desenvolvimento de DM tipo 1. O risco está ligado ao número de anticorpos presentes durante a evolução do processo auto-imune (43, 44, 45, 50, 59, 60, 61, 62) e ao seu título (44, 61). Um estudo mostrou risco de desenvolvimento de DM tipo 1 em familiares de primeiro grau de paciente com DM tipo 1 de 39% e 68% em 3 e 5 anos, respectivamente, para dois anticorpos (GAD, IAA ou IA-2) presentes e risco de 100% em 5 anos para 3 anticorpos presentes (60).

O IA-2, também conhecido como ICA-512, é um membro da família da proteína transmembrana tirosina fosfatase, que é expressa no tecido neuroendócrino e encontrado nas células  $\alpha$  e  $\beta$  pancreáticas. Existe ainda uma outra proteína relacionada a IA-2, que é IA-2 $\beta$ , também conhecida com fognina (111, 112). Anticorpos contra ambas são encontrados apenas para sua porção intracelular. Muitos anticorpos contra IA-2 $\beta$ , também reconhecem IA-2, mas

alguns IA-2 não reconhecem a IA-2 $\beta$ , por isso a IA-2 é utilizada nos imunoenaios (111). Os melhores ensaios para medida de IA-2 são os radiomunoensaios (111). Sua sensibilidade no diagnóstico de DM 1 varia de 60-70% (34), mas sua positividade não é estável, caindo com a duração da doença (44), sendo maior em pacientes com diagnóstico de DM antes dos 10 anos (34). Sua presença em pacientes inicialmente diagnosticados como tipo 2 varia de 2-4% (113-115). Seu aparecimento parece estar mais próximo do aparecimento das características clínicas do DM tipo 1 do que o anti-GAD (34).

Em resumo, os anticorpos são marcadores de auto-imunidade e sua presença denota diabetes do tipo 1. Eles em geral aparecem anos antes do início do quadro clínico de DM, e o risco do desenvolvimento da doença em parentes de primeiro grau e na população em geral está associado ao número de anticorpos e não a um tipo em especial. O risco é maior quando mais de 3 deles estão presentes ao mesmo tempo. Quanto ao diagnóstico de DM 1, o IAA está presente em indivíduos mais jovens, principalmente antes dos 5 anos de idade e parece ser um bom marcador da doença nesta faixa etária. O ICA, assim como o IA-2, também está presente nos indivíduos mais jovens, tendo seu melhor desempenho nos indivíduos com até 15 a 20 anos quando do início da doença, sendo que o IA-2 permanece mais tempo no soro que o ICA. Já o anti-GAD tem seu melhor desempenho nos indivíduos com início da doença acima dos 20 anos de idade e é o que permanece positivo por mais tempo, sendo o de escolha para o diagnóstico do DM do tipo LADA (64). A presença de qualquer um deles, principalmente ICA, GAD, IAA e IA-2, está associado à queda da função da célula  $\beta$  e prediz necessidade de uso de insulina.

### **Papel do peptídeo-C**

A estrutura de 2 cadeias da insulina foi descrita em 1955 (69) e em 1967 foi documentada a existência de um precursor biossintético, a pró-insulina (70). O peptídeo-C (PEPC) é um subproduto da degradação da pró-insulina e é co-secretado junto com a insulina

pela célula  $\beta$  pancreática (70). Dentro da ilhota pancreática, a pró-insulina sofre clivagem, gerando como produtos insulina e PEPC, os quais são liberados na circulação porta em concentrações equimolares (Figura 2) (71). Os níveis de PEPC têm sido empregados como um índice de função da célula  $\beta$ , avaliando tanto a reserva como a secreção de insulina, constituindo-se em ferramenta auxiliar na classificação do tipo de DM e na escolha inicial de tratamento (72-75). A preservação da secreção endógena de insulina está correlacionada com melhor controle glicêmico (83-94, 98), redução das complicações crônicas do DM e redução dos episódios de hipoglicemia (83, 98). Além disso, o PEPC apresenta a vantagem de, ao contrário da insulina, não ser degradado pelo fígado (78-80), ter degradação periférica constante em diversas concentrações e em diversos níveis glicêmicos (76, 81, 82), ter sua eliminação exclusivamente renal, com meia vida de mais ou menos 30 minutos e ainda contar com ensaio de detecção confiável (76, 77).

O método de medida para o PEPC deve ter um baixo índice de reatividade cruzada com pró-insulina e seus subprodutos, e em geral menos de 10% é considerado adequado. Como o PEPC é uma molécula pequena, podendo sofrer clivagem de enzimas proteolíticas, o plasma deve ser logo separado (em menos de 2 horas) e a medida deve ser realizada durante o primeiro mês de congelamento. O tempo de armazenamento, mesmo congelado, e o número de vezes em que há descongelamento podem influenciar na sua imunoreatividade com taxa de queda muito variável. Idealmente, as condições locais de armazenamento e dosagem devem ser validadas (98). Um esforço mundial para padronização da medida do PEPC está em andamento (97, 98, 117).

Um dos aspectos mais importantes e, ainda não bem definido, é em que condições de homeostase glicêmica o PEPC deve ser medido (95). Sabe-se que o controle glicêmico pode alterar o resultado do teste. A hiperglicemia pode tanto aumentar (por estímulo direto da glicemia) ou reduzir (por glicotoxicidade) a resposta da célula  $\beta$  ao teste, assim como a



hipoglicemia pode inibir a resposta da célula  $\beta$  (95, 96). Por isso, a medida do PEPC por qualquer método utilizado deve ser realizada na ausência de hiper ou hipoglicemia, idealmente com glicemia entre 70-200 mg/dl (97).

A medida de PEPC pode ser realizada no basal ou estimulada por glucagon endovenoso, intramuscular ou subcutâneo, aminoácidos por via oral ou endovenosa, por glicose oral ou endovenosa e por refeição mista (99-104). A correlação entre PEPC basal e estimulado tem  $r=0,8$  (exemplo: PEPC basal de 0,6 ng/ml equivale à 1,8 ng/ml estimulado) e o mesmo deve ser medido sempre que o tipo de DM do paciente se comportar de maneira não esperada (105). Embora a correlação entre valores basais e estimulados seja boa, a maioria dos trabalhos utiliza os valores estimulados e os dois estímulos que têm sido mais utilizados são o glucagon e o teste da refeição mista (97, 98). Embora vários trabalhos existam, não há clara vantagem de um teste sobre o outro (106, 107), nem há trabalhos comparando ambos os testes (97, 98, 108, 109), mas a ADA favorece a utilização do teste da refeição mista (97).

O valor do PEPC tem sido sugerido como uma ferramenta diagnóstica útil no auxílio à correta classificação do tipo de DM nos casos clinicamente duvidosos. No entanto, há controvérsia sobre a necessidade da medida de PEPC tanto no basal como após estimulação para diferenciar os DM tipo 1 do tipo 2; alguns autores sugerem que o valor basal sozinho seria suficiente, enquanto outros recomendam utilização do valor estimulado. Em pacientes recém diagnosticados, valores de PEPC após 1 mg de glucagon menores que 1,8 ng/ml (125) e menores que 1,5 ng/ml após o teste da refeição mista (94) foram utilizados para classificação de pacientes como DM tipo 1. No entanto, um estudo mais recente mostrou que o valor randômico (medido a qualquer hora) do PEPC é mais sensível e específico que o valor em jejum ou após o estímulo com glucagon (110) para diferenciação do DM tipo 1 do tipo 2. Este mesmo estudo sugere como pontos de corte, valores randômicos menores que 1,5 ng/ml, de jejum menores que 1,26 ng/ml e após estímulo de 1,8 ng/ml como mais sensíveis na

classificação do tipo de DM como tipo 1. No entanto, muitos não levam em consideração o efeito do tempo de duração do DM sobre os níveis de peptídeo-C, uma vez que vários estudos acompanhando pacientes diabéticos tem mostrado que a função da célula  $\beta$  cai com o tempo de duração do DM, tanto em tipo 1 quanto em tipo 2, sendo mais rápida nos pacientes com pior controle glicêmico (83, 94, 122, 123). No entanto, como a taxa de queda é variável, uma medida única serve para diagnóstico nos casos novos, mas não serve para avaliar seu declínio, sendo que medidas repetidas são recomendadas (97, 98, 122).

Em resumo, devido às suas características bioquímicas e de seu ensaio, a medida do PEPC é um bom marcador de função da célula  $\beta$ , avalia tanto a reserva como a secreção de insulina e deve ser realizada com glicemia entre 70-200 mg/dl. Pode ser utilizada como ferramenta auxiliar na classificação do tipo de DM em casos novos havendo grande controvérsia quanto ao tipo de medida (se basal ou estimulada), mas como a maioria dos grandes trabalhos utilizou a estimulada, esta é a preferida e valores, em geral, menores que 1,5 ng/ml definem o paciente como DM tipo 1. Embora o teste da refeição mista seja o recomendado pela ADA, o teste com 1 mg de glucagon é mais simples e igualmente eficaz.

### **Análise crítica dos esquemas de classificação**

No próprio conceito, o DM é colocado como um grupo heterogêneo de doenças metabólicas e sua correta classificação deve estabelecer princípios fisiopatológicos que ajudem no seu tratamento (12, 13, 14, 15). No entanto, estudos atuais (118, 119) mostram que estes esquemas de classificação não refletem verdadeiramente os mecanismos por trás dos diversos tipos de DM.

Existem 4 esquemas atuais de classificação do DM. O esquema da Associação Americana de Diabetes (ADA) (12), um modificado desta classificação (120), o baseado no Índice de Massa Corporal (IMC) (121) e o baseado na presença de auto-imunidade e função da célula  $\beta$ , chamado A $\beta$  (119).

Segundo a classificação da ADA, a presença de cetoacidose classifica a pessoa com DM tipo 1 e ela é subclassificada como tipo 1A se existirem marcadores imunológicos positivos contra a célula  $\beta$  e tipo 1B (idiopático) se eles estão ausentes. A Classificação da ADA modificada (120) classifica pacientes em 3 grupos; os com marcadores imunológicos positivos contra a célula  $\beta$  ou antígenos contra a célula  $\beta$  como tipo 1A e aqueles que não possuem anticorpos são sub-classificados em 02 grupos, os que dependem de insulina e os que não dependem baseado na necessidade de uso de insulina a longo prazo. Em geral, os DM tipo 1A e os insulino-dependentes têm características clínicas de DM tipo 1 com baixa função da célula  $\beta$  enquanto que os classificados como não insulino-dependentes têm características clínicas de DM tipo 2 com função de célula  $\beta$  preservada (120). O esquema baseado no IMC (121) classifica os pacientes como sendo “magros” (  $IMC < 28 \text{ kg/m}^2$ ) e “obesos” (  $IMC > 28 \text{ kg/m}^2$ ). Os primeiros são aqueles com características clínicas de DM tipo 1 com baixa função da célula  $\beta$  e os obesos têm características clínicas de DM tipo 2 com função de célula  $\beta$  preservada. Já a classificação denominada  $A\beta$  (119) se baseia na presença ou ausência de marcadores de auto-imunidade contra célula  $\beta$ , associado à presença ou ausência de função de célula  $\beta$ . Existem 4 grupos:  $A+\beta-$  são os que têm auto-imunidade e ausência de função célula  $\beta$ , os  $A+\beta+$  são os que têm auto-imunidade e função célula  $\beta$  preservada, os  $A-\beta-$  não possuem auto-imunidade nem função de célula  $\beta$  preservada e os  $A-\beta+$  não têm auto-imunidade, mas têm função da célula  $\beta$  preservada. Os pacientes  $A+\beta-$  e  $A-\beta-$  são imuno e geneticamente diferentes entre si, mas têm características clínicas de DM tipo 1 com baixa função da célula  $\beta$ . Os  $A-\beta+$  e  $A+\beta+$  são imuno e geneticamente diferentes entre si, mas tem características clínicas de DM tipo 2 com função de célula  $\beta$  preservada (119).

Com casos novos de DM aparecendo em idades consideradas “não usuais”, um método de classificação que seja eficiente e útil deve ser intensivamente buscado. Um recente trabalho (118), comparou a acurácia diagnóstica destas 4 formas de classificação, mostrando

que em uma amostra de presença ou ausência de auto-imunidade (anticorpos) e a função da célula  $\beta$  (peptídeo-C), a A $\beta$ , tem uma sensibilidade de 99,4%, especificidade de 95,9%, valor preditivo positivo de 97,1% e valor preditivo negativo de 99,2% com uma área sobre a curva ROC de 0,972, sendo estatisticamente superior as outras 3 em classificar o tipo de DM. Embora esse dado não seja definitivo e outros estudos sejam ainda necessários para que haja uma maior certeza sobre a acurácia desta classificação, a magnitude da diferença em relação às demais formas de classificação atualmente em uso, especialmente sobre a da ADA (118), sugere que ela possa ser adotada como um método eficaz, relativamente simples e preciso de classificação do DM.

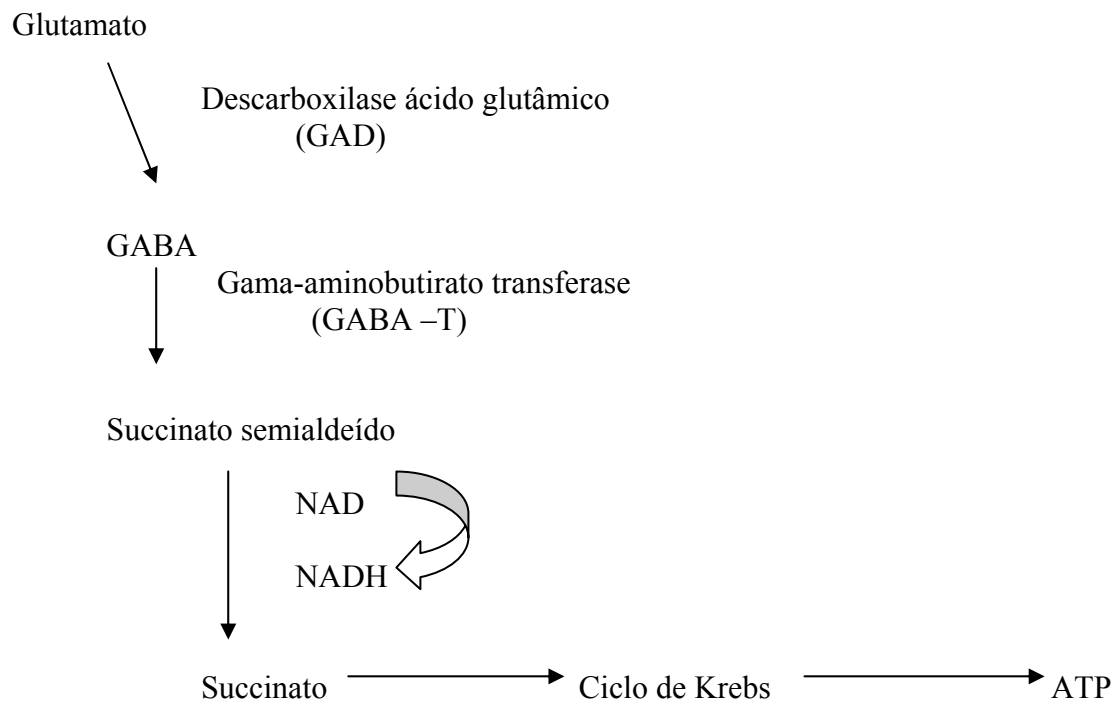


Figura 1. Função da descarboxilase do ácido glutâmico (GAD).

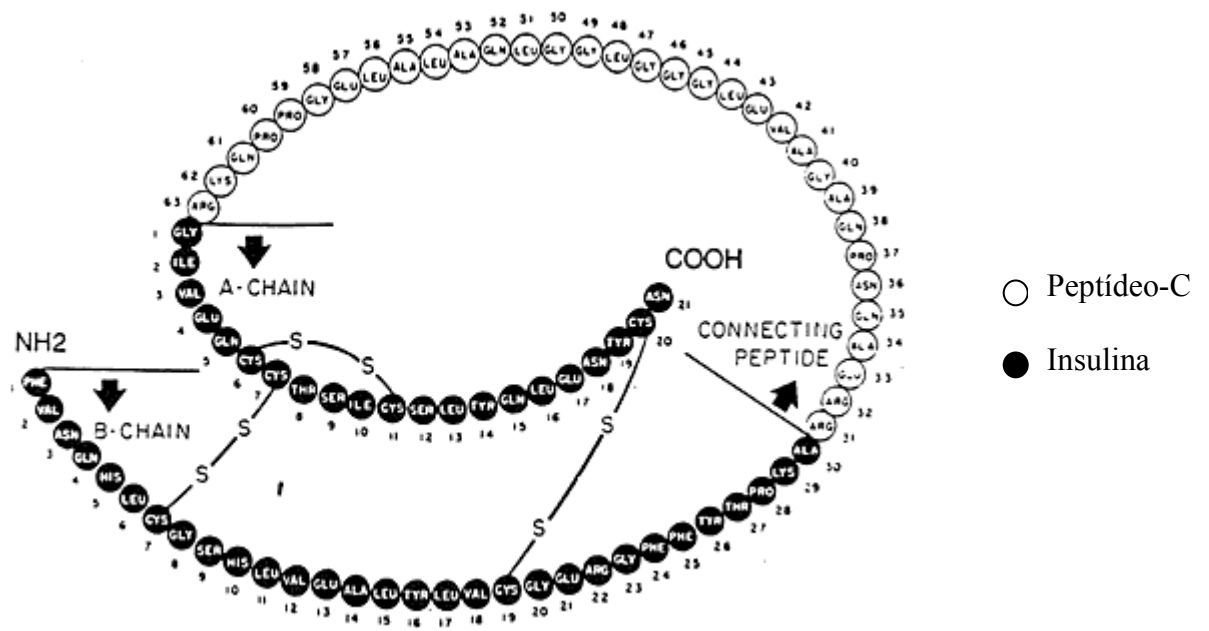


Figura 2. Estrutura molecular da pró-insulina.

Quadro 1. Classificação etiológica do diabetes melito.

<p>I. Diabetes melito tipo 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>A. Mediado imunologicamente</li><li>B. Idiopático</li></ul> <p>II. Diabetes melito tipo 2</p> <p>III. Outros tipos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"><li>Defeitos genéticos da função da célula <math>\beta</math> (MODY, DNA mitocondrial)</li><li>Defeitos genéticos na ação da insulina (diabete lipoatrófico)</li><li>Doenças do pâncreas exócrino (pancreatite, hemocromatose)</li><li>Endocrinopatias (acromegalia, síndrome de Cushing)</li><li>Induzido por drogas (glicocorticóides, tiazídicos)</li><li>Infecções (citomegalovírus, rubéola congênita)</li><li>Formas imunológicas incomuns (anticorpos contra receptor da insulina)</li><li>Outras síndromes genéticas (síndrome de Down, Turner, Prader Willi)</li></ul> <p>IV. Diabetes melito gestacional</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Adaptado das referências 12,13 e 15

Quadro 2 . Desempenho diagnóstico dos principais anticorpos contra o pâncreas para classificação de DM 1.

<b>Anticorpo</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Sensibilidade</b>	<b>Especificidade</b>
Anti-ilhota	ICA	70-90%	96-99%
Anti-insulina	IAA	50-70%	99%
Descarboxilase Ácido Glutâmico	GAD	70-90%	99%
Antígeno Insulinoma “like”	IA-2	55-75%	

Adaptado referências 50, 60, 61, 115



## Referências Bibliográficas

1. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025 Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 292-6.
2. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047-53.
3. Hossain P, Kawar B, Nahas ME. Obesity and diabetes in the developing world - a growing challenge. *N Engl J Med* 2007; 356: 213-15.
4. Malerbi DA, Franco LJ. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. *Diabetes Care* 1992; 15: 1509-16.
5. Goldenberg P, Schenkman S and Franco LJ. Prevalence of diabetes mellitus: gender differences and sex equalities. *Rev Bras Epidemiol* 2003; 6: 18-28.
6. Nucci LB, Toscano CM, Maia ALM, Fonseca CD, Britto MMB, Duncan BB, et al. Brazilian National Campaign for Diabetes Mellitus Detection Working Group. A nationwide population screening program for diabetes in Brazil. *Rev Panam Salud Publica* 2004;16:320-7.
7. Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329:977-86.
8. UK Prospective Diabetes Study Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837-53.
9. UK Prospective Diabetes Study Group: Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998; 352: 854-65.
10. Wake N, Hisashige A, Katayama T, Kishikawa H, Ohkubo Y, Sakai M, et al. Cost-effectiveness of intensive insulin therapy for type 2 diabetes: a 10-year follow-up of the Kumamoto study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000; 48(3):201-10.
11. World Health Organization: Diabetes Mellitus: Report of a WHO Study Group. Geneva, World Health Org., 1985 (Tech.Rep. Ser., no. 727)
12. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1183-97.
13. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: 3160-67.
14. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Geneva, World Health Organization, 1999; 59p
15. World Health Organization Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia : Report of a WHO/IDF consultation. Geneva, World Health Organization, 2006.
16. Pozzilli P and Di Mario U. Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (Latent Autoimmune Diabetes of the Adult): Definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care* 2001; 24: 1460-67.
17. N Tattersall RB, Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q J Med* 1974; 43:339-57.

18. Gepts W: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 1965; 14: 619-33.
19. Bottazzo G, Christensen AF, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 1974; 310:1279-83.
20. Lernmark A, Freedman ZR, Hofmann C, Rubenstein AH, Steiner DF, Jackson RL, et al. Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1978; 299:375-80.
21. Baekkeskov S, Nielsen JH, Marner B, Bilde T, Ludvigsson J, Lernmark A. Autoantibodies in newly diagnosed diabetic children immunoprecipitate human pancreatic islet cell proteins. *Nature* 1982; 298: 167-9.
22. Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, et al. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990; 347:151-6.
23. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science* 1983; 222:1337-39.
24. Lan, MS, Wasserfall C, Maclaren NK, Notkins AL IA-2. A transmembrane protein of the protein tyrosine phosphatase family, is a major autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93:6367-70.
25. Verge CF, Stenger D, Bonifacio E, Colman PG, Pilcher C, Bingley PJ, et al. Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type 1 diabetes: combinatorial islet autoantibody Workshop. *Diabetes* 1998 47:1857-66.
26. Mire-Sluis AR, Das RG, Lernmark Å. The World Health Organization international collaborative study for islet cell antibodies. *Diabetologia* 2000 43:1282-92.
27. Williams AJK, Bingley PJ, Bonifacio E, Palmer JP, Gale EAM. A novel micro-assay for insulin autoantibodies. *J Autoimmun* 1997; 10: 473-8.
28. Bingley PJ, Bonifacio E, Mueller PW: Diabetes Antibody Standardization Program: first assay proficiency evaluation *Diabetes* 2003; 52:1128-36.
29. Bottazzo GF and Gleichmann H. Immunology and Diabetes Workshops: report of the first international workshop on the standardisation of cytoplasmic islet cell antibodies. *Diabetologia* 1986;29: 125-6.
30. Winter WE, Harris N, Schatz D. Immunological markers in the diagnosis and prediction of autoimmune Type 1a diabetes. *Clin Diabetes* 2002; 20: 183-91.
31. Timsit J, Caillat-Zucman S, Blondel H, Chedin P, Bach JF, Boitard C. Islet cell antibody heterogeneity among Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1992; 35: 792-5.
32. Marner B, Agner T, Binder C, Lernmark Å, Nerup J, Mandrup-Poulsen T. Increased reduction in fasting C-peptide is associated with islet cell antibodies in Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1985; 28: 875-80.
33. Landin-Olsson M, Karlsson FA, Lernmark A, Sundkvist G. Islet cell and thyrogastic antibodies in 633 consecutive 15- to 34-yr-old patients in the Diabetes Incidence Study in Sweden. *Diabetes* 1992; 41: 1022-27.
34. Graham J, Hagopian WA, Kockum I, Li LS, Sanjeevi CB, Lowe RM, Schaefer JB, et al. Genetic effects on age-dependent onset and islet cell autoantibody markers in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51:1346-55.
35. Feeney SJ, Myers MA, Mackay IR, Zimmet PZ, Howard N, Verge CF, et al. Evaluation of ICA512As in combination with other islet cell autoantibodies at the onset of IDDM. *Diabetes Care* 1997; 20:1403-07.

36. Schiffrin A, Ciampi A, Hendricks L, Rozen R, Weitzner G. Evidence for different clinical subtypes of Type 1 diabetes mellitus: a prospective study. *Diabet Res Clin Pract* 1994; 23: 95-102.
37. Hathout EH, Thomas W, El-Shahawy M, Nahab F, Mace JW. Diabetic autoimmune markers in children and adolescents with type 2 diabetes. *Pediatrics* 2001; 107:102-5.
38. Littorin B, Sundkvist G, Hagopian W, Landin-Olsson M, Lernmark A, Ostman J, et al. Islet cell and glutamic acid decarboxylase antibodies present at diagnosis of diabetes predict the need for insulin treatment. A cohort study in young adults whose disease was initially labeled as type 2 or unclassifiable diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 409-12.
39. Turner R, Stratton I, Horton V, Manley S, Zimmet P, Mackay IR, et al. for UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group UKPDS 25: Autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. *Lancet* 1997; 350: 1288-93.
40. McCulloch DK, Klaff LJ, Kahn SE, Schoenfeld SL, Greenbaum CJ, Mauseth RS, et al. Progression of subclinical beta-cell dysfunction among first-degree relatives of IDDM patients: 5-yr follow-up of the Seattle Family Study. (insulin-dependent diabetes mellitus) *Diabetes* 1990;39: 549-56.
41. Landin-Olsson M, Palmer JP, Lernmarks A, BlomL, Sundkvist G, Nyström L, et al. Predictive value of islet cell and insulin autoantibodies for Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based study of newly-diagnosed diabetic and matched control children. *Diabetologia* 1993; 35: 1068-73.
42. Ziegler AG. The Fourth International Workshop on the Standardisation of Insulin Autoantibody Measurement. *Diabetologia* 1990; 33: 683-9.
43. Komulainen J, Kulmala P, Savola K, Lounamaa R, Ilonen J, Reijonen H, et al. Clinical, autoimmune, and genetic characteristics of very young children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:1950-55.
44. Hagopian, W.A. Glutamate decarboxylase-, insulin- and islet cell-antibodies and HLA typing to detect diabetes in a general population- based study of Swedish children. *J Clin Invest.* 1995; 95:1505-11.
45. Kimpimaki T, Kupila A, Hamalainen AM, Kukko M, Kulmala P, Savola K, et al. The first signs of beta-cell autoimmunity appear in infancy in genetically susceptible children from the general population: the Finnish Type 1 Diabetes Prediction and Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4782-88.
46. Yu L, Robles DT, Abiru N, Kaur P, Rewers M, Kelemen K, et al. Early expression of antiinsulin autoantibodies of humans and the NOD mouse: evidence for early determination of subsequent diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:1701-06.
47. Vandewalle CL, Decraene T, Schuit FC, Leeuw IH, Pipeleers DG and Gorus FK. Insulin autoantibodies and high titre islet cell antibodies are preferentially associated with the HLA DQA1\*0301-DQB1\*0302 haplotype at clinical onset of Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus before age 10 years, but not at onset between age 10 and 40 years. *Diabetologia* 1993; 36: 1155-62.
48. Eisenbarth GS, Jackson RA and Pugliese A. Insulin autoimmunity: the rate limiting factor in pre-type I diabetes. *J Autoimmun* 1992; 5: 241-6.
49. Keskinen P, Korhonen S, Kupila A, Veijola R, Erkkila S, Savolainen H, et al. First-phase insulin response in young healthy children at genetic and immunological risk for type I diabetes. *Diabetologia* 2002; 45:1639-48.
50. Kulmala P. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes: a population-based study. *J Clin Invest* 1998; 101: 327-36.
51. Knip M: Natural course of preclinical type 1 diabetes. *Horm Res* 2002; 57: 6-11.

52. Schidli RS, Colman PG, Bonifacio E. Disease sensitivity and specificity of 52 assays for glutamic acid decarboxylase antibodies. The second international GADAb workshop. *Diabetes* 1995; 44: 636-40.
53. Bu DF. Two human glutamate decarboxylases, 65-kDa GAD and 67-kDa GAD, are each encoded by a single gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1992; 89: 2115-19.
54. Karlsen AE, Hagopian WA, Grubin CE, Dube S, Disteché CM, Adler DA, et al. Cloning and primary structure of a human islet isoform of glutamic acid decarboxylase from chromosome 10. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 8337-41.
55. Vincent St, Hokfelt T, Wu-J-Y, EIDE RP, Morgan LM, Kimmel JR. Immunohistochemical studies of the GABA system in the pancreas. *Neuroendocrinology* 1983; 36: 197-204.
56. Schmidli RS, Colman PG, Bonifacio E, Bottazzo GF, Harrison LC. High level of concordance between assays for glutamic acid decarboxylase antibodies. The First International Glutamic Acid Decarboxylase Antibody Workshop. *Diabetes* 1994; 43: 1005-09.
57. Vandewalle CL, Falorni A, Svanholm S, Lernmark A, Pipeleers DG, Gorus FK. High diagnostic sensitivity of glutamate decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes mellitus with clinical onset between age 20 and 40 years. The Belgian Diabetes Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 846-851.
58. Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, Mackay IR, Zimmet PZ, Egan M, et al. Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a population-based study. *Diabetologia* 1994; 37:1113-20.
59. Krischer JP, Cuthbertson DD, Yu L, Orban T, Maclaren N, Jackson R, et al. Screening strategies for the identification of multiple antibody-positive relatives of individuals with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:103-8.
60. Verge CF. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes* 1996; 45:926-33.
61. Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJK, Genovese S, Bottazzo GF, Gale EAM: Prediction of IDDM in the general population: strategies based on combinations of autoantibody markers. *Diabetes* 1997; 46:1701-10.
62. Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Naserke HE, Williams AJ, Bingley PJ, et al. Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. *Diabetes* 2004; 53:384-92.
63. Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes* 1999; 48:460-8.
64. Notkins AL, Lernmark Å: Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *J Clin Invest* 2001; 108:1247-1252.
65. Falorni A, Örtqvist E, Persson B, Lernmark A. Radioimmunoassays for glutamic acid decarboxylase (GAD65) and GAD65 autoantibodies using <sup>35</sup>S or <sup>3</sup>H recombinant human ligands *J Immunol Meth* 1995; 186: 89-99.
66. Falorni A, Grubin CE, Takei I, Shimada A, Kasuga A, Maruyama T, et al. Radioimmunoassay detects the frequent occurrence of autoantibodies to the Mr 65,000 isoform of glutamic acid decarboxylase in Japanese insulin-dependent diabetes. *Autoimmunity* 1994; 19: 113-25.
67. Aanstoot HJ, Sigurdsson E, Jaffe M, Shi Y, Christgau S, Grobbee D, et al. Value of antibodies to GAD65 combined with islet cell cytoplasmic antibodies for predicting IDDM in a childhood population. *Diabetologia* 1994; 37: 917-24.
68. Yu L, Gianani R, and Eisenbarth GS. Quantitation of glutamic acid decarboxylase

- autoantibody levels in prospectively evaluated relatives of patients with type I diabetes *Diabetes* 1994; 43: 1229-33.
69. Ryle AP, Sanger F, Smith LF, Kitai R. The disulphide bonds of insulin. *Biochem J* 1955; 60: 541-56.
70. Steiner DF, Cunningham D, Spigelman L, Aten B. Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science* 1967; 157: 697-700.
71. Rubenstein AH, Clark JL, Melani F, Steiner DF: Secretion of proinsulin, C-peptide by pancreatic cells and its circulation in blood. *Nature* 1969; 224: 697-99.
72. Polonsky KS, Licinio-Paixao J, Given BD, Pugh W, Rue P, Galloway J, et al. Use of biosynthetic human C-peptide in the measurement of insulin secretion rates in normal volunteers and type I diabetic patients. *J Clin Invest* 1986; 77: 98-105.
73. Shapiro ET, Tillil H, Rubenstein AH, Polonsky KS. Peripheral insulin parallels changes in insulin secretion more closely than C-peptide after bolus intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 1094-99.
74. Eaton RP, Allen RC, Shade DS, Erickson KM, Standefer J. Prehepatic insulin production in man: kinetic analysis using peripheral connecting peptide behavior. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:520-8.
75. Van Cauter E, Mestrez F, Sturis J, Polonsky KS. Estimation of insulin secretion rates from C-peptide levels: comparison of individual and standard kinetic parameters for C-peptide clearance. *Diabetes* 1992; 41: 368-77.
76. Faber OK, Kehlet H, Madsbad S, Binder C. Kinetics of human C-peptide in man. *Diabetes* 1978; 27 (suppl. 1): 207-9.
77. Rubenstein AH, Kuzuya H, Horwitz DL. Clinical significance of circulating C-peptide in diabetes mellitus and hypoglycemic disorders. *Arch Int Med* 1977; 137: 625-32.
78. Polonsky KS, Jaspan J, Pugh W, Cohen D, Schneider M, Schwartz T, et al. Metabolism of C-peptide in the dog: in vivo demonstration of the absence of hepatic extraction. *J Clin Invest* 1983; 72:1114-23.
79. Polonsky KS, Pugh W, Jaspan JB, Cohen DM, Karrison T, Tager HS, et al. C-peptide and insulin secretion: relationship between peripheral concentrations of C-peptide and insulin and their secretion rates in the dog. *J Clin Invest* 1984; 74:1821-29.
80. Bratusch-Marrain PR, Waldhausl WK, Gasic S, Hofer A. Hepatic disposal of biosynthetic human insulin and porcine proinsulin in humans. *Metabolism* 1984; 33:151-7.
81. Licinio-Paixao J, Polonsky KS, Given BD, Pugh W, Ostrega D, Frank BF, et al. Ingestion of a mixed meal does not affect the metabolic clearance rate of biosynthetic human C-peptide. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63:401-3.
82. Gumbiner B, Polonsky KS, Beltz WF, Griver K, Wallace P, Brechtel G, et al. Effects of weight loss and reduced hyperglycemia on the kinetics of insulin secretion in obese non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:1594-1602.
83. The DCCT Research Group: Effect of intensive therapy on residual  $\beta$ -cell function in patients with type I diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial. *Ann Intern Med* 1998; 128:517-23.
84. Nakanishi K, Kobayashi T, Miyashita H, Ohkubo M, Sugimoto T, Murase T, et al. Relationships among islet cell antibodies, residual  $\beta$ -cell function, and metabolic control in patients with insulin-dependent diabetes mellitus of long duration: use of a sensitive C-peptide radioimmunoassay. *Metabolism* 1990; 39:925-30.
85. Nakanishi K, Kobayashi T, Inoko H, Tsuji K, Murase T, Kosaka K. Residual  $\beta$ -cell function and HLA-A24 in IDDM, markers of glycemic control and subsequent development of diabetic retinopathy. *Diabetes* 1995; 44:1334-39.
86. Sjoberg S, Gunnarsson R, Gjotterberg M, Lefvert AK, Persson A, Osterman J. Residual insulin production, glycaemic control and prevalence of microvascular lesions and

polyneuropathy in long-term type 1 (insulindependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1987; 30:208-13.

87. Ludvigsson J, Heding LG, Larsson Y, Leander E: C-peptide in juvenile diabetics beyond the postinital remission period. *Acta Pædiatr Scand* 1977; 66:177-84.

88. Madsbad S, McNair P, Faber OK, Binder C, Christiansen C, Transbøl I.  $\beta$ -Cell function and metabolic control in insulin treated diabetics. *Acta Endocrinologica* 1980; 93:196-200.

89. Sjöberg S, Gjøtterberg M, Berglund L, Møller E, Osterman J: Residual C-peptide excretion is associated with a better long-term glycaemic control and slower progress of retinopathy in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *J Diabet Complications* 1991 ; 1:18-22.

90. Grajwer LA, Pildes RS, Horwitz DL, Rubenstein AH. Control of juvenile diabetes mellitus and its relationship to endogenous insulin secretion as measured by C-peptide immunoreactivity. *J Pediatr* 1977; 90:42-8.

91. Gonen B, Goldman J, Baldwin D, Goldberg RB, Ryan WG, Blix PM, et al. Metabolic control in diabetic patients: effect of insulin-secretory reserve (measured by plasma C peptide levels) and circulating insulin antibodies. *Diabetes* 1979; 28:749-53.

92. Fukuda M, Tanaka A, Tahara Y, Ikegami H, Yamamoto Y, Kumahara Y, et al. Correlation between minimal secretory capacity of pancreatic  $\beta$ -cells and stability of diabetic control. *Diabetes* 1988; 37:81-88.

93. Johansson BL, Borg K, Fernqvist-Forbes E, Kernell A, Odergren T, Wahren J. Beneficial effects of C-peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2000; 17:181-9.

94. The DCCT Research Group: Effects of age, duration and treatment of insulin-dependent diabetes mellitus on residual beta-cell function: observations during eligibility testing for the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:30-6.

95. Madsbad S, Sauerbrey N, Møller-Jensen B, Krarup T, Kuhl C. Outcome of the glucagon test depends upon the prevailing blood glucose concentration in type I (insulin-dependent) diabetic patients. *Acta Med Scand* 1987; 222:71-4.

96. Ronnema T. Practical aspects in performing the glucagon test in the measurement of C-peptide secretion in diabetic patients. *Scand J Clin Lab Invest* 1986; 46:345-49.

97. Greenbaum CJ, Harrison LC. Guidelines for intervention trials in subjects with newly diagnosed type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52:1059-65.

98. Palmer JP, Fleming AG, Greenbaum CJ, Herold KC, Jansa LD, Kolb H, et al. C-Peptide is the appropriate outcome measure for Type 1 diabetes clinical trials to preserve  $\beta$ -cell function: Report of an ADA Workshop, 21–22 October 2001, *Diabetes* 53: 250-64.

99. Mirel RD, Ginsberg-Fellner F, Horwitz DL, Rayfield EJ. C-peptide reserve in insulin-dependent diabetes: comparative responses to glucose, glucagon and tolbutamide. *Diabetologia* 1980;19:183-88.

100. Menchini M, Meschi F, Lambiase R, Puzzovio M, Del Guercio MJ, Chiumello G. C-peptide response to arginine stimulation in diabetic children. *J Pediatr* 1980; 96:362-66.

101. Scheen AJ, Castillo MJ, Lefebvre PJ. Assessment of residual insulin secretion in diabetic patients using the intravenous glucagon stimulatory test: methodological aspects and clinical applications. *Diabetes Metab* 1996; 22:397-406.

102. Rakotoambinina B, Timsit J, Deschamps I, Laborde K, Gautier D, Jos J, et al. Insulin responses to intravenous glucose, intravenous arginine and a hyperglycaemic clamp in ICA-positive subjects with different degrees of glucose tolerance. *Diabetes Metab* 1997; 23:43–50.

103. Sjöberg S, Gunnarsson R, Ostman J. Residual C-peptide production in type I diabetes mellitus: a comparison of different methods of assessment and influence on glucose control. *Acta Med Scand* 1983; 214:231-7.

104. Heinze E, Beischer W, Keller L, Winkler G, Teller WM, Pfeiffer EF. C-peptide secretion during the remission phase of juvenile diabetes. *Diabetes* 1978; 27:670-6.
105. Zachary T Bloomgarden. Immunologic issues in Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 2143-49.
106. Schnell O, Eisfelder B, Standl E, Ziegler AG. High-dose intravenous insulin infusion versus intensive insulin treatment in newly diagnosed IDDM. *Diabetes* 1997; 46:1607-11.
107. Chaillous L, Lefevre H, Thivolet C, Boitard C, Lahlou N, Atlan-Gepner C, et al. Oral insulin administration and residual beta-cell function in recent-onset type 1 diabetes: a multicentre randomised controlled trial: Diabete Insuline Orale group. *Lancet* 2000; 356:545-9.
108. Wroblewski M, Gottsater A, Lindgarde F, Fernlund P, Sundkvist G. Gender, autoantibodies, and obesity in newly diagnosed diabetic patients aged 40-75 years. *Diabetes Care* 1998; 21:250-5.
109. Zimmet P, Turner R, McCarty D, Rowley M, Mackay I. Crucial points at diagnosis: type 2 diabetes or slow type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22 (Suppl. 2):B59-B64.
110. Berger B, Stenstrom G, Sundkvist G. Random C-peptide in the classification of diabetes. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60:687-3.
111. Leslie RD, Atkinson MA, Notkins AL. Autoantigens IA-2 and GAD in Type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1999; 42:3-14.
112. Lu J, Li Q, Xie H, Chen ZJ, Borovitskaya AE, Maclaren NK, Notkins AL, et al. Identification of a second transmembrane protein tyrosine phosphatase, IA-2beta, as an autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus: precursor of the 37-kDa tryptic fragment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:2307-11.
113. Schranz DB, Bekris L, Landin-Olsson M, Torn C, Nilang A, Toll A, et al. A simple and rapid microSepharose assay for GAD65 and ICA512 autoantibodies in diabetes. *J Immunol Methods* 1998; 213:87-97.
114. Turner R, et al. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. UK Prospective Diabetes Study Group. *Lancet* 1997; 350:1288-93.
115. Hawa MI, Fava D, Medici F, Deng YJ, Notkins AL, De Mattia G, et al. Antibodies to IA-2 and GAD65 in type 1 and type 2 diabetes: isotype restriction and polyclonality. *Diabetes Care* 2000; 23:228-33.
116. Gorus FK, Goubert P, Semakula C, Vandewalle CL, De Schepper J, Scheen A, et al. IA-2 autoantibodies complement GAD65 autoantibodies in newonset IDDM patients and help predict impending diabetes in their siblings. *Diabetologia* 1997; 40: 95-99.
117. Wiedmeyer HM, Polonsky KS, Myers GL, Little RR, Greenbaum CJ, Goldstein DE, et al. International comparison of C-peptide measurements. *Clin Chem* 2007; 53:784-7.
118. Balasubramanyam A, Garza G, Rodriguez L, Hampe CS, Gaur L, Lernmark A, et al. Accuracy and predictive value of classification schemes for ketosis-prone diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2575-79.
119. Maldonado M, Hampe CS, Gaur L, D'Amico S, Iyer D, Hammerle LP, et al. Ketosis-prone diabetes: dissection of a heterogeneous syndrome using an immunogenetic and  $\beta$ -cell functional classification: prospective analysis and clinical outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5090-98.
120. Mauvais-Jarvis F, Sobngwi E, Porcher R, Riveline JP, Kevorkian JP, Vaisse C, et al. Ketosis-prone type 2 diabetes inpatients of sub-Saharan African origin: clinical pathophysiology and natural history of  $\beta$ -cell dysfunction and insulin resistance. *Diabetes* 2004; 53:645-53.

121. Umpierrez GE, Woo W, Hagopian WA, Isaacs SD, Palmer JP, Gaur LK, et al. Immunogenetic analysis suggests different pathogenesis for obese and lean African-Americans with diabetic ketoacidosis. *Diabetes Care* 1999; 22:1517-23.
122. Zangeneh F, Arora PS, Dyck PJ, Bekris L, Lernmark A, Achenbach SJ, et al. Effects of duration of type 2 diabetes mellitus on insulin secretion. *Endocr Pract.* 2006;12:388-93.
123. Niskanen L, Karjalainen J, Siitonen O, Uusitupa M. Metabolic evolution of type 2 diabetes: a 10-year follow-up from the time of diagnosis. *J Intern Med* 1994; 236:263-70.
124. Scholin A, Bjorklund L, Borg H, Arnqvist H, Bjork E, Blohme G, et al. Islet antibodies and remaining b-cell function 8 years after diagnosis of diabetes in young adults: a prospective follow-up of the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden. *J Intern Med* 2004; 255: 384-91.
125. H o t h e r-Nielsen O, Faber O, Sorensen NS, Beck-Nielsen H. Classification of newly diagnosed diabetic patients as insulin requiring or non-insulin-requiring based on clinical and biochemical variables. *Diabetes Care* 1988; 11:531-7.



Acurácia Diagnóstica do Anticorpo Anti-Descarboxilase do Ácido Glutâmico (anti-GAD)  
como Marcador de Auto-imunidade no Diabete Melito

Jorge de Faria Maraschin

Nádia Murussi

Vanessa Witter

Ticiane Rodrigues

Jorge Luiz Gross

Egna Regina Rossalto

Sandra Pinho Silveiro

Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Correspondência:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre,

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar, 90035-003, Porto Alegre, RS.

E.mail: sandrasilveiro@terra.com.br

Fone: 55 51 21018127

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar a acurácia diagnóstica da dosagem dos anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD) no diagnóstico diferencial do diabetes melito (DM) no jovem.

**Métodos:** Nesse estudo transversal de teste diagnóstico, o anti-GAD foi avaliado por radioimunoensaio em 92 pacientes com DM tipo 1 e em 12 com MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*). Como controle, foram analisados 59 indivíduos sem história familiar de DM, com teste de tolerância à glicose normal.

**Resultados:** Todos os pacientes com MODY apresentaram anticorpos negativos. Nos indivíduos DM 1 com anti-GAD positivo, a duração do DM foi menor em relação aos casos com anticorpo negativo ( $12\pm 8$  vs.  $19\pm 9$  anos,  $P < 0,001$ ) e a proporção de positividade foi maior nos pacientes diagnosticados com idade  $\geq 16$  anos vs.  $< 16$  anos de idade (59% vs 31%,  $P=0,01$ ). Nos indivíduos com DM tipo 1, em modelo de regressão logística múltipla, tendo como variável dependente a positividade do anticorpo e como variáveis independentes a duração do DM ( $\geq 15$  anos vs.  $< 15$  anos), idade ao diagnóstico ( $< 16$  vs.  $\geq 16$  anos) e o gênero, a única variável que mostrou-se significativamente associada à presença do anticorpo foi a menor duração do DM, com razão de chance (RC)=5,6; (IC 95% =2,1-14,6;  $P < 0,001$ ). Em modelo semelhante incluindo apenas indivíduos do sexo masculino, a menor duração do DM (RC=7,5; IC=1,75-32,0;  $P=0,007$ ) e a idade mais avançada ao diagnóstico (RC=6,5; IC=1,5-28,0;  $P=0,012$ ) foram significativamente relacionadas ao anticorpo. A regressão exclusiva do sexo feminino obteve achados semelhantes aos do grupo geral. O melhor desempenho diagnóstico do anti-GAD foi nos pacientes com duração da doença inferior a 15 anos e idade ao diagnóstico acima dos 16 anos simultaneamente, onde a sensibilidade (intervalo de confiança) foi de 75,7% (58,4-87,6), especificidade de 98,3% (89,7-99,9), valor preditivo positivo de 96,6% (80,4-99,8), valor preditivo negativo de 86,6% (75,5 - 93,3) e acurácia de 89,5%.

**Conclusões:** O desempenho diagnóstico do anti-GAD foi melhor em indivíduos diagnosticados em idade igual ou após as 16 anos, constituindo-se em ferramenta útil no diagnóstico diferencial do DM de início no adulto jovem, podendo ser informativo até após 15 anos do início do DM.

Unitermos: Anti-GAD, diabetes melito, acurácia diagnóstica, auto-imunidade, DM tipo 1

**Abstract**

**Aim:** To evaluate the diagnostic accuracy of glutamic acid decarboxylase antibodies (anti-GAD) in the differential diagnosis of DM of the young.

**Methods:** In this cross-sectional study, anti-GAD was evaluated by radioimmunoassay in 92 patients with type 1 diabetes and 12 patients with MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young). As a control group, 59 subjects with a negative family history of DM and with normal glucose tolerance test were analysed.

**Results:** All patients with MODY presented negative antibodies. In type 1 patients with positive anti-GAD, DM duration was shorter ( $12\pm 8$  vs.  $19\pm 9$  years,  $P < 0.001$ ), and the proportion of positivity was higher in patients diagnosed after age 16 vs.  $< 16$  (59% vs 31%,  $P=0.01$ ). In type 1 patients, a multiple logistic regression model with the antibody positivity as the dependent variable and diabetes duration ( $\geq 15$  vs.  $< 15$  years), age at diagnosis ( $< 16$  vs.  $\geq 16$  years), and gender as independent variables, disclosed that the only variable related to the presence of the antibody was the shorter diabetes duration, odds ratio (OR)=5.6; (CI 95% =2.1-14.6;  $P < 0.001$ ). In a similar model, including just males, a shorter DM duration (OR=7.5; IC=1.8-32.0;  $P=0.007$ ), and a more advanced age at diagnosis (OR=6.5; IC=1.5-28.0;  $P=0.012$ ) were significantly related to the antibody. A regression with females showed similar results to those of the whole group. The best performance of the test was in patients with up to 15 years of diabetes and age at diagnosis above 16, with a sensitivity of 75.7% (58.4-87.6), specificity of 98.3% (89.7-99.9), positive predictive value of 96.6% (80.4-99.8), negative predictive value of 86.6% (75.5-93.3) and accuracy of 89.5%.

**Conclusions:** The best diagnostic performance of anti-GAD was that of subjects with the diagnosis of diabetes made during early adult life compared to children, making it a helpful tool in the differential diagnosis of DM starting in the young adult, and providing useful information until 15 years of diabetes duration.

**Keywords:** Anti-GAD, diabetes mellitus, diagnostic accuracy, autoimmunity, type 1 DM

Diabete Melito (DM) é o termo usado para descrever um grupo heterogêneo de doenças metabólicas caracterizado por hiperglicemia crônica, resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina (1, 2, 3, 4, 5). Sua prevalência vem aumentando ao longo dos anos e é classificada como uma epidemia pela Organização Mundial de Saúde (OMS). A estimativa da prevalência mundial está em torno de 4,0 % (6, 7, 8), no Brasil, de 7,6% em 1993 (9) e 9,1% na cidade de São Paulo em 2003 (10). A prevalência de glicemia alterada já está aumentando no Brasil, sendo de 15,7 % segundo dados do Ministério da Saúde (11).

A classificação do DM foi redefinida em 1997 (2), endossada pela OMS em 1999 (3) e revisada novamente pela *American Diabetes Association* (ADA) em 2003 (4) e pela OMS em 2006 (5). Atualmente o DM é dividido em 4 categorias: DM tipo 1, DM tipo 2, Outros tipos, que inclui vários subgrupos com patogêneses distintas e onde destaca-se o *Maturity Onset Diabetes of the Young* (MODY) e a categoria de DM Gestacional. No entanto, apesar da classificação definir cada subtipo através de características peculiares, pode existir uma sobreposição de quadros clínicos, principalmente no DM que inicia no adulto jovem. Muitas vezes é difícil distinguir o DM tipo 1 do MODY e do DM 2 de início precoce, sendo esse último cada vez mais freqüente devido ao aumento da prevalência de obesidade e síndrome metabólica nas sociedades ocidentais (7, 8).

No diagnóstico diferencial do DM no jovem, a presença de auto-imunidade contra a célula  $\beta$  pancreática é um dado laboratorial que pode auxiliar de modo decisivo na definição diagnóstica (2, 3, 4, 5). Sua presença denota origem auto-imune, portanto, DM do tipo 1 e implica no início do tratamento com insulina. O anticorpo anti-GAD é um subtipo de anticorpo anti-ilhota e sua sensibilidade para o diagnóstico de DM tipo 1 é de 75-84% (12, 13, 14, 15). Sua especificidade chega a 98,8% (16, 17) e também é o teste que permanece positivo por mais tempo no soro. O objetivo do presente estudo foi de avaliar a acurácia dos anticorpos

anti-GAD no diagnóstico de autoimunidade como um auxiliar no diagnóstico do DM tipo 1 no jovem.

## **PACIENTES E MÉTODOS**

### **Pacientes e controles**

Foram incluídos no estudo 163 indivíduos, sendo 92 pacientes com diagnóstico estabelecido de DM 1, 12 pacientes com DM tipo MODY (tipo 2 e 3), todos em acompanhamento no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), e 59 indivíduos saudáveis durante março de 2005 à março de 2007. Os critérios de inclusão para DM tipo 1 foram os seguintes: paciente com história ou dados de prontuário compatíveis com cetoacidose diabética, início do uso de insulina até 5 anos após o diagnóstico e/ou níveis basais de peptídeo-C inferiores a 0,9 ng/ml. Foram excluídos os pacientes com doença de Graves e doença renal crônica. Os critérios de inclusão para diagnóstico de MODY foram a presença de história de pelo menos 2 gerações acometidas, início do quadro abaixo de 25 anos, sem evidência de dependência de insulina, sendo o diagnóstico confirmado por análise molecular. Para o grupo controle, foram selecionados 59 indivíduos com idade semelhante, sem história de DM em familiares de primeiro grau e com teste de tolerância à glicose (TTG) com 75 g normal segundo critérios da ADA (2, 4).

### **Métodos**

O delineamento empregado foi de um estudo transversal de teste diagnóstico. Os dados foram analisados e registrados de acordo com as recomendações do STARD (18). Os indivíduos selecionados foram submetidos à anamnese e exame físico, onde foram coletados dados referentes à etnia, idade ao diagnóstico do DM, duração do mesmo, quadro possível de cetoacidose diabética, tratamento inicial, atual e tempo sem necessidade de uso de insulina, história familiar de DM, presença de outras patologias, de tabagismo e etilismo. Todos os pacientes foram pesados com roupas leves em uma balança calibrada. A altura foi medida sem

calçados com estadiômetro. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso em quilogramas (kg) pela altura em metros quadrados ( $\text{kg/m}^2$ ). A cintura foi medida com fita métrica não distensível na linha imaginária equidistante da borda inferior da última costela e a borda superior da crista ilíaca ântero-superior, de acordo com o preconizado pela OMS. A pressão arterial (PA) foi medida com esfigmomanômetro calibrado, de coluna de mercúrio, de acordo com as recomendações do VII JOINT (19).

O TTG foi realizado medindo-se a glicemia de jejum e 2 horas após a ingestão de 75 g glicose, com método enzimático. Foi considerado como normal uma glicemia de jejum inferior a 100 mg/dl e 2 horas após, inferior a 140 mg/dl. O anticorpo anti-GAD foi avaliado por radioimunoensaio, RSR LIMITED® Londres UK (coeficiente de variação interensaio de 4,9% e 7,0% para valores de 6,1 e 42,9 U/ml e intra-ensaio de 3,6% e 3,7% para valores de 6,4 e 42,7 U/ml, respectivamente) (20). Valores de anti-GAD  $\geq 1,0$  U/ml foram considerados positivos e menores que 1,0 U/ml, negativos. A medida do peptídeo-C foi realizada por quimiluminescência com kit IMMULITE® (coeficiente de variação inter-ensaio de 6,3% e 4,4% para valores de 0,9 e 4,4 ng/ml, respectivamente, e limite de detecção de 0,3 ng/ml) (21). O DNA genômico foi extraído do sangue periférico por método padrão. Para o diagnóstico do MODY, as mutações foram pesquisadas por seqüenciamento do gene da glicoquinase - MODY 2 (duas hélices do exon 1a e 2-10) e do HNF-1 $\alpha$  - MODY 3 (10 exons).

Na análise estatística, foram empregados o teste t de Student ou análise de variância (ANOVA) para variáveis contínuas com distribuição normal com teste Tukey conforme indicado. As variáveis sem distribuição normal foram avaliadas por testes não paramétricos ou submetidas à transformação logarítmica antes das análises. As variáveis categóricas foram analisadas através do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com análise de resíduos post-DOC. Regressões logísticas múltiplas foram realizadas, tendo como variável dependente a

positividade do anticorpo e como variáveis independentes o gênero, idade ao diagnóstico (( $<16$  vs  $\geq 16$  anos) e a duração do DM ( $<15$  vs.  $\geq 15$  anos) . Foram calculados sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia com seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Os demais valores foram expressos como média  $\pm$  DP ou em porcentagem. O valor de alfa considerado significativo foi menor que 0,05. As análises foram realizadas através do pacote estatístico SPSS 15 para Windows.

## RESULTADOS

### Características

A Figura 1 evidencia o fluxograma do estudo e a Tabela 1 mostra as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DM 1 e DM tipo MODY. Como esperado, as concentrações basais de peptídeo-C foram estatisticamente mais elevadas nos pacientes com MODY. Os níveis de pressão sistólica também foram mais elevados nesse grupo. Dos 12 pacientes com MODY, 10 (83%) utilizavam insulina e o tempo médio para início do uso de insulina foi significativamente maior no MODY (12 anos vs. 39 dias no DM 1). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as demais variáveis, nem quanto ao controle glicêmico ou lipídico (dados não mostrados). O grupo controle foi constituído por 26 mulheres e 33 homens normotensos, com idade de  $30 \pm 7$  anos, sendo 2 indivíduos negros e 5 fumantes. A idade do grupo controle foi significativamente menor em relação ao grupo DM 1 e MODY ( $P=0,001$ ). O IMC calculado foi de  $23 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup> e cintura de  $88 \pm 10$  cm para homens e  $75 \pm 10$  cm para mulheres. Os níveis de peptídeo-C foram de  $1,8 \pm 0,8$  ng/ml.

O anticorpo anti-GAD foi positivo em apenas 1 dos 59 controles. Todos os indivíduos com MODY apresentaram anticorpos negativos. No DM tipo 1 como um todo ( $n=92$ ), a dosagem do anticorpo anti-GAD foi positiva em 44 dos 92 casos, com uma sensibilidade e intervalo de confiança de 95%, respectivamente, de 47,5% (37,4-58,4), especificidade de

98,3% (89,7-99,9), valor preditivo positivo (VPP) de 97,8% (86,8-99,9) valor preditivo negativo (VPN) de 54,7% (44,8-64,3) e acurácia de 67,5%.

Os pacientes com DM tipo 1 foram categorizados como anti-GAD positivo e negativo (Tabela 2), e foi observado que a duração do DM foi estatisticamente menor no grupo com anti-GAD positivo ( $12 \pm 8$  vs.  $19 \pm 9$  anos,  $P < 0,001$ ). Por sua vez, a idade ao diagnóstico de DM foi estatisticamente maior nos pacientes com anti-GAD positivo ( $22 \pm 9$  vs  $18 \pm 10$  anos;  $P = 0,042$ ). Não foram observadas diferenças estatísticas entre as demais variáveis.

A duração do DM foi estratificada em períodos de 5 anos para avaliar o desempenho diagnóstico do anti-GAD em cada faixa (Figura 2). O desempenho foi semelhante até 15 anos de duração do DM ( $P = 0,78$ ), diminuindo significativamente com duração superior ( $P = 0,001$ ). Quando agrupados em faixas de duração  $< 15$  vs.  $\geq 15$  anos, a proporção de positivos foi significativamente maior no grupo com menor duração (67% vs. 24%,  $P < 0,001$ ).

Para avaliar a influência mais específica da idade de instalação do DM sobre o teste, calcularam-se as diferentes sensibilidades e especificidades de acordo com a idade ao diagnóstico. O desempenho diagnóstico do anti-GAD nos pacientes com início do DM com idade  $\geq 16$  anos (33 positivos de 56) foi significativamente superior em relação aos  $< 16$  anos e mostrou sensibilidade e intervalo de confiança de 95%, respectivamente, de 58,9% (45-71,6), especificidade de 98,3% (89,7-99,9), VPP de 97,1% (82,9-99,8), VPN de 71,6% (60,3-80,8) e acurácia de 79,1% (Figura 3). Já nos pacientes com início de DM 1 antes dos 16 anos (11 positivos de 36) o anti-GAD teve sensibilidade e intervalo de confiança, respectivamente, de 30,6% (16,9-48,3), especificidade de 98,3% (89,7-99,9), VPP de 91,7% (59,8-99,8), VPN de 69,9% (58,7-79,1) e acurácia de 72,6%. A partir desses achados foram realizadas regressões logísticas múltiplas, tendo como variável dependente a positividade do anticorpo e como variáveis independentes e, de forma categórica, a duração do DM ( $\geq 15$  anos vs.  $< 15$  anos), idade ao diagnóstico ( $< 16$  vs.  $\geq 16$  anos) e o gênero. A única variável que mostrou-se



significativamente associada ao anticorpo foi a menor duração do DM com razão de chance (RC)=5,6; (IC 95% =2,1-14,6; P<0,001).

Não foi observada diferença entre gêneros em relação à positividade do teste nos 92 pacientes com DM tipo 1 (23 positivos de 49 no sexo masculino vs. 21 positivos de 43 no sexo feminino; P=0,511). No entanto, quando foram realizadas regressões logísticas múltiplas com pré-seleção apenas de homens e tendo a variável dependente a positividade do anticorpo, e a duração do DM ( $\geq 15$  anos vs.  $< 15$  anos) e idade ao diagnóstico ( $< 16$  vs  $\geq 16$  anos) como variáveis categóricas independentes, a menor duração do DM e a idade mais avançada ao diagnóstico foram estatisticamente significativas RC=7,5; (IC 95% =1,75-32,0; P=0,007) e RC=6,5; (IC 95% =1,5-28,0; P=0,012), respectivamente. Com inclusão exclusiva do sexo feminino, a mesma regressão mostrou apenas que a menor duração do DM foi estatisticamente significativa com RC=7,3; (IC 95% =1,6-37,0; P=0,011).

Avaliando-se o desempenho diagnóstico do anti-GAD nas subcategorias de idade ao diagnóstico e duração do DM 1, o melhor desempenho do teste foi nos pacientes com diagnóstico de DM com mais de 16 anos e duração da doença menor ou igual a 15 anos simultaneamente (28 positivos de 37) com sensibilidade e intervalo de confiança de 95% respectivamente de 75,7% (58,4-87,6), especificidade de 98,3% (89,7-99,9), valor preditivo positivo de 96,6% (80,4-99,8), valor preditivo negativo de 86,6% (75,5-93,3) e acurácia de 89,5%.

## **DISCUSSÃO**

Quando estratificado por idade ao diagnóstico e duração do DM, o melhor desempenho diagnóstico do anti-GAD foi nos pacientes com diagnóstico de DM com mais de 16 anos e duração da doença menor que 15 anos, com sensibilidade de 75,7% e acurácia de 89,5%. Este resultado é muito semelhante à sensibilidade relatada na literatura, que varia de 75 a 84% (12,13,14,15,23). Embora a especificidade encontrada seja praticamente idêntica a

de estudos prévios, de 98,3 vs 98,8% (16, 17), a sensibilidade nesse grupo de DM tipo 1 (47,5%) como um todo foi bem menor. Isso provavelmente se deve ao grande número de pacientes (40%) com idade ao diagnóstico <16 anos e à duração de DM acima de 15 anos presente em 41 dos 92 (44,5%) da amostra.

Existe grande diferença na sensibilidade do anti-GAD conforme a idade ao diagnóstico do DM tipo 1. Ela é menor nos indivíduos mais jovens e maior a medida que a idade do diagnóstico aumenta, principalmente acima dos 20 de idade (14, 15, 23, 24, 25, 26). O anti-GAD é o anticorpo mais prevalente no DM tipo 1 com idade de instalação acima dos 20 anos (14) e sua positividade é constante com idades na faixa de 10 a 40 anos (14, 27). Sua sensibilidade também é maior que o anticorpo anti-ilhota e o anti-insulina em adultos, sendo o marcador de auto-imunidade mais sensível nesta faixa etária (14, 19, 23, 25, 28). Em nossa amostra, embora a idade ao diagnóstico seja estatisticamente maior nos pacientes com anti-GAD positivo vs anti-GAD negativo, na regressão logística ela apresenta uma tendência, mas não é estatisticamente significativa no grupo como um todo com  $RC=2,4$ ; (IC 95% =0,92-6,3;  $P=0,072$ ). No entanto, essa associação de maior positividade com idade mais elevada está presente no sexo masculino.

Quanto maior a duração do DM, menor a positividade do anti-GAD, mas, ainda assim, mais de 50% dos pacientes com DM tipo 1 tem anti-GAD positivo após 10 anos de duração da doença, sendo o anticorpo que permanece mais tempo positivo (14, 26, 27). O presente estudo reproduziu claramente este achado, mas ampliando a faixa de desempenho satisfatório do teste para até 15 anos de DM. Levando em conta simultaneamente a duração do DM e idade ao diagnóstico, o melhor desempenho do anti-GAD foi nos pacientes com mais de 16 anos de idade no momento do diagnóstico e duração do DM igual ou inferior a 15 anos, demonstrando a influência destes dois fatores na sua positividade, justamente a faixa onde a dúvida diagnóstica é maior (12, 14, 15, 23, 24).

A sensibilidade do anti-GAD varia com o gênero (15, 23, 24). No sexo feminino, sua sensibilidade fica em torno de 80%, sem variação com a idade ao diagnóstico. Já no sexo masculino, é de 50-60% abaixo dos 10 anos e 75-90 % acima dessa faixa (14, 15, 23, 24). No entanto, não existe diferença demonstrada na literatura entre os sexos acima dos 20 anos de idade (14). Esse dado também foi reproduzido nessa amostra, já que no sexo masculino tanto a idade ao diagnóstico quanto a duração do DM foram determinantes da positividade do anti-GAD, enquanto que no sexo feminino a idade ao diagnóstico não teve influência, permanecendo apenas a duração do DM. Embora o desempenho diagnóstico relatado (14) do anti-GAD seja pior no sexo masculino em indivíduos jovens (<10 anos), não foi observada diferença entre os sexos nesta faixa etária, provavelmente devido ao pequeno número de casos (n=13).

No grupo dos DM tipo MODY, a dosagem do anticorpo anti-GAD foi negativa em todos, achado compatível com o quadro, uma vez que esse tipo de DM é autossômico dominante e tem sua etiologia relacionada a defeitos em genes ligados à secreção de insulina, sem qualquer componente de auto-imunidade (29, 30). Em relação ao perfil clínico do MODY e DM tipo 1, não foi evidenciada qualquer peculiaridade capaz de distinguir o tipo de DM, exceto pelo tempo transcorrido até o início do uso de insulina, que foi amplamente mais longo nos MODY. No entanto, a seleção do grupo de MODY pode ter influenciado nos resultados da positividade dos anticorpos, já que foram recrutados preferencialmente, *a priori*, pacientes com quadro clínico altamente sugestivo de MODY, incluindo início do uso de insulina após 5 anos. Na população como um todo, é possível que existam indivíduos com MODY que venham a usar insulina mais cedo, dificultando o diagnóstico diferencial com DM 1 e reforçando a necessidade da realização de exames complementares.

Recentemente foi demonstrada excelente acurácia diagnóstica da classificação chamada de A $\beta$ , que avalia a presença ou ausência de auto-imunidade (A=anticorpos) e a

função da célula  $\beta$  ( $\beta$ =nível de peptídeo-C) (31, 32). Nesse sentido, a dosagem do peptídeo-C e a avaliação de auto-imunidade contra a célula  $\beta$  através do anti-GAD permitiram a classificação mais precisa do tipo de DM no presente estudo.

Em conclusão, foi observado que o desempenho diagnóstico do anti-GAD foi melhor em indivíduos diagnosticados a partir da adolescência em relação à infância, constituindo-se em ferramenta útil no diagnóstico diferencial do DM de início no adulto jovem, podendo ser informativo até após 15 anos do início do DM.

### **CONFLITO DE INTERESSE**

Nenhum a declarar.

### **AGRADECIMENTOS**

Esse estudo recebeu apoio do Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Agradecemos à Dra. Joíza Lins Camargo, chefe da Unidade de Bioquímica e Imunoensaios e à bioquímica Rossana pelo auxílio nas dosagens do anti-GAD; ao laboratório Santa Catarina pela processamento e estoque de amostras e ao ambulatório médico de especialidades da UNISUL. Um agradecimento especial ao Dr Gilberto Velho pelo auxílio no diagnóstico molecular dos tipos de MODY

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

- 1 - World Health Organization: Diabetes Mellitus: Report of a WHO Study Group. Geneva, World Health Org., 1985 (Tech.Rep. Ser., no. 727).
- 2 - The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1183-97.
- 3 - World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva, World Health Org., 1999.
- 4 - The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: 3160-67.
- 5 - World Health Organization Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: Report of a WHO/IDF consultation. Geneva, World Health Organization, 2006.
- 6 - King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025 Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 292-6.
- 7 - Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047-53.
- 8 - Hossain P, Kavar B, Nahas ME. Obesity and diabetes in the developing world-a growing challenge. *N Engl J Med* 2007; 356: 213-15.
- 9 - Malerbi DA, Franco LJ. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. *Diabetes Care* 1992; 15: 1509-16.
- 10- Goldenberg P, Schenkman S and Franco LJ. Prevalence of diabetes mellitus: gender differences and sex equalities. *Rev Bras Epidemiol* 2003; 6: 18-28.
- 11 - Nucci LB, Toscano CM, Maia ALM, Fonseca CD, Britto MMB, Duncan BB et al. Brazilian National Campaign for Diabetes Mellitus Detection Working Group. A nationwide population screening program for diabetes in Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2004; 16: 320-7.
- 12 - Winter WE, Harris N, Schatz, D. Immunological markers in the diagnosis and prediction of autoimmune type 1a diabetes. *Clin Diabetes* 2002; 20: 183-91.
- 13- Bingley PJ, Bonifacio E, Mueller PW. Diabetes antibody standardization program: first assay proficiency evaluation. *Diabetes* 2003; 52:1128-36.
- 14 - Vandewalle CL, Falorni A, Svanholm S, Lernmark A, Pipeleers DG, Gorus FK. High diagnostic sensitivity of glutamate decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes

mellitus with clinical onset between age 20 and 40 years. The Belgian Diabetes Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 846-51.

15 - Notkins AL, Lernmark Å: Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *J Clin Invest* 2001; 108:1247-52.

16 - Falorni A, Örtqvist E, Persson B, Lernmark A. Radioimmunoassays for glutamic acid decarboxylase (GAD65) and GAD65 autoantibodies using <sup>35</sup>S or <sup>3</sup>H recombinant human ligands *J Immunol Meth* 1995; 186: 89-99.

17 - Falorni A, Grubin CE, Takei I, Shimada A, Kasuga A, Maruyama T, et al. Radioimmunoassay detects the frequent occurrence of autoantibodies to the Mr 65,000 isoform of glutamic acid decarboxylase in Japanese insulin-dependent diabetes. *Autoimmunity* 1994; 19: 113-25.

18 - Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. for the STARD Group. Towards Complete and Accurate Reporting of Studies of Diagnostic Accuracy: The STARD Initiative. *Ann Intern Med* 2003; 138: 40-44.

19 - Chobanian AV, Bakris GL; Black HR. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report. *JAMA* 2003; 289: 2560-72.

20 - Powell M, Prentice L, Asawa T, Kato R, Sawicka J, Tanaka H, et al. Glutamic acid decarboxylase autoantibody assay using 125I-labelled recombinant GAD65 produced in yeast. *Clin Chim Acta*. 1996 Dec 30; 256:175-88.

21 - Baekkeskov S, Nielsen JH, Marner B, Bilde T, Ludvigsson J, Lernmark A. Autoantibodies in newly diagnosed diabetic children immunoprecipitate human pancreatic islet cell proteins. *Nature* 1982; 298: 167-9.

22 - Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, et al. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature*. 1990; 347:151-156.

23 - Graham J, Hagopian WA, Kockum I, Li LS, Sanjeevi CB, Lowe RM, Schaefer JB, et al. Genetic effects on age-dependent onset and islet cell autoantibody markers in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51:1346-55.

24 - Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, Mackay IR, Zimmet PZ, Egan M. et al. Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a population-based study. *Diabetologia* 1994; 37:1113-20.

25 - Hathout EH, Thomas W, El-Shahawy M, Nahab F, Mace JW: Diabetic autoimmune markers in children and adolescents with type 2 diabetes. *Pediatrics* 2001; 107:102-5.

26 - Scholin A, Bjorklund L, Borg, H. Islet antibodies and remaining b-cell function 8 years after diagnosis of diabetes in young adults: a prospective follow-up of the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden. *J Intern Med* 2004; 255: 384-91.

- 27- Aanstoot HJ, Sigurdsson E, Jaffe M, Shi Y, Christgau S, Grobbee D, et al. Value of antibodies to GAD65 combined with islet cell cytoplasmic antibodies for predicting IDDM in a childhood population. *Diabetologia* 1994; 37: 917-24.
- 28 - Borg H, Gottsäter A, Fernlund P, Sundkvist G. A 12-year prospective study of the relationship between islet antibodies and  $\beta$ -cell function at and after the diagnosis in patients with adult-onset diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 1754-62.
- 29 - Tattersall RB. Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q J Med* 1974; 43: 339-357.
- 30 – Fajan SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med* 2001; 345: 971-80.
- 31 - Maldonado M, Hampe CS, Gaur L, et al. Ketosis-prone diabetes: dissection of a heterogeneous syndrome using an immunogenetic and  $\beta$ -cell functional classification: prospective analysis and clinical outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5090-98.
- 32 - Balasubramanyam A, Garza G, Rodriguez L, et al. Accuracy and predictive value of classification schemes for ketosis-prone diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2575-79.

Tabela 1. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DM 1 e MODY.

	<b>DM 1</b>	<b>MODY</b>	<b>Valor de P</b>
	<b>(n=92)</b>	<b>(n=12)</b>	
Idade (anos)	35 ± 10	41 ± 17	0,110
Sexo masculino	49 (53%)	3 (25%)	0,061
Etnia (B/ P)	85/7	11/1	0,63
Idade diagnóstico (anos)	20 ± 9	20 ± 5	0,905
Duração DM (anos)	16 ± 9	21 ± 12	0,087
Tabagismo	68/15/9	6/3/3	0,183
Nunca/ExFumante/Fumante			
Hipertensão arterial	19 (21%)	4 (25%)	0,256
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24 ± 3	25 ± 4	0,49
Cintura (cm) – Homens	83 ± 9	92 ± 5	0,58
- Mulheres	79 ± 11	83 ± 11	0,62
PAS (mmHg)	117 ± 14	135 ± 27	<0,001
PAD (mmHg)	75 ± 12	77 ± 5	0,712
Peptídeo-C (ng/ml)	0,51 ± 0,1	1,15 ± 0,6	<0,001

Dados apresentados como média ± DP e número de casos (%).

B=branco, P=preto, PAS=Pressão arterial sistólica, PAD=Pressão arterial diastólica



Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DM 1 e dosagem de anticorpo anti-GAD positivo vs. negativo.

	Anti-GAD + (n=44)	Anti-GAD – (n=48)	Valor de P
Idade (anos)	34 ± 10	37 ± 11	0,22
Sexo masc	23 (52%)	26 (54%)	0,511
Etnia (B/ P)	41/3	44/4	0,549
Tabagismo (Nunca/ExFumante/Fumante)	31/8/5	37/6/5	0,625
Hipertensão Arterial	7 (16%)	12 (24%)	0,207
Idade ao Diagnóstico (anos)	22 ± 9	18 ± 10	0,043
Duração DM (anos)	12 ± 8	19 ± 9	0,001
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24 ± 3	24 ± 3	0,664
Cintura (cm) – Homens	85 ± 6	81 ± 11	0,115
- Mulheres	79 ± 12	79 ± 10	0,972
PAS (mmHg)	115 ± 16	119 ± 13	0,145
PAD (mmHg)	75 ± 15	76 ± 9	0,610
Peptídeo-C (ng/ml)	0,51 ± 0,01	0,52 ± 0,39	0,572
Glicemia jejum (mg/dl)	152 ± 74,79	167 ± 92,6	0,41
Teste A1c (%)	8,5 ± 1,9	8,3 ± 1,8	0,497
Colesterol total (mg/dl)	176 ± 39	173 ± 36	0,708
HDL (mg/dl)	60 ± 13	56 ± 15	0,210
Triglicerídeos (mg/dl)	81 (36 – 206)	92 (36 – 365)	0,57

Dados apresentados como média±DP e número de casos (%) ou mediana (variação).

B=branco, P=preto, PAS=Pressão arterial sistólica, PAD=Pressão arterial diastólica

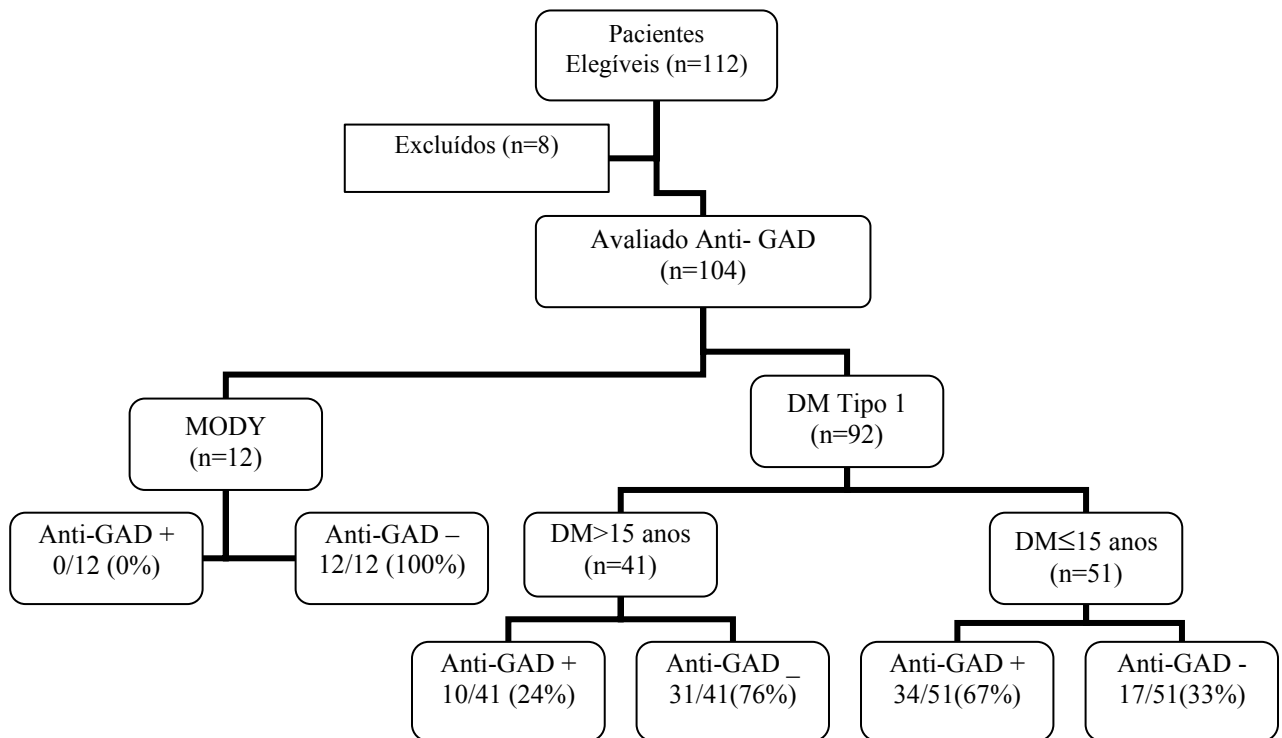


Figura 1. Fluxograma do estudo.

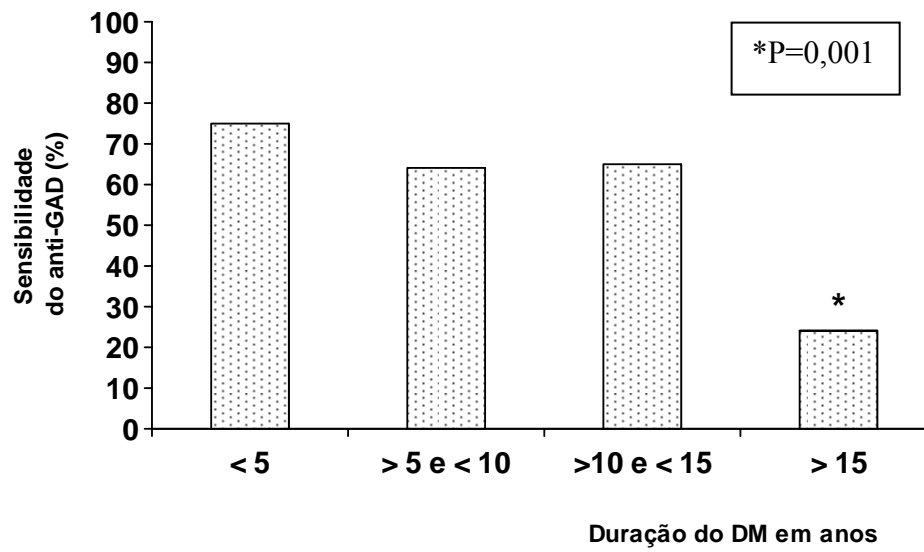


Figura 2. Desempenho diagnóstico do anti-GAD em relação à duração do DM tipo 1.

