



ARTIGO ORIGINAL

Estudo de auto-anticorpos para ilhotas pancreáticas (ICA e ICA-CF) e evolução para o diabetes insulino-dependente (DM ID)

Progression to IDDM and islet cell antibodies (ICA; ICA-CF)

Marília de B. Gomes¹, Gildasio R. Silva Jr.², Euzenir N. Sarno³,
Leila M. M. Vieira⁴, Eduardo P. Marques⁵, Antônio R. Chacra⁶

Resumo

Foram acompanhados, por três anos, oito familiares em 1º grau de pacientes com Diabetes insulino-dependente (DMID) regularmente atendidos no ambulatório de Diabetes da Disciplina de Diabetes e Metabologia do HUPE - UERJ, todos ICA e/ou ICA-CF positivos. Dos oito casos, três casos, todos com idade inferior a 15 anos, evoluíram para o DMID respectivamente 12, 21 e 8 meses após a primeira detecção dos auto-anticorpos. Quatro casos persistiram ICA e/ou ICA-CF positivos e em um caso houve negatificação da reação no período de observação. A evolução para o DMID foi correlacionada à titulação dos ICA e/ou ICA-CF ($\geq 1/16$).

Pelo tamanho da amostra estudada concluímos que, em três anos de observação, 37,5 % dos familiares em 1º grau com títulos de ICA elevados e positividade aos ICA-CF evoluíram para o DMID, enfatizando a importância de ambos como marcadores de previsão para o DMID.

J. pediatr. (Rio J.). 1996; 72(4):221-224: diabetes insulino-dependente, autoimunidade.

Introdução

Nos últimos anos, observaram-se mudanças radicais nas concepções referentes à etiopatogenia do Diabetes Mellitus tipo I, insulino-dependente (DMID). Apesar dos conhecimentos adquiridos sobre o assunto, persistem uma complexidade e uma diversidade na conceituação dos mecanismos patogênicos implicados na doença.

1. Prof. adjunto da Disciplina de Diabetes e Metabologia - UERJ.

2. Pós-graduando do HUPE - UERJ.

3. Prof. titular da Disciplina de Patologia Geral - UERJ.

4. Prof. adjunto da Disciplina de Patologia Geral - UERJ.

5. Médico do HUPE - UERJ.

6. Prof. titular de endocrinologia da Escola Paulista de Medicina.

Trabalho realizado pela Disciplina de Diabetes e Metabologia e pela Disciplina de Patologia Geral da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Abstract

We have followed eight first-degree relatives of IDDM patients (insulin-dependent, type I diabetes) attending the outpatient diabetes clinic at the State University of Rio de Janeiro for three years, all of them with positive islet cell antibodies (ICA and / or ICA-CF). Three out of eight relatives less than fifteen years old have subsequently progressed to overt Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) 12, 21 and 8 months after the first positive autoantibodies detection. Four relatives have remained with ICA and / or ICA-CF positive, and in another one the reaction became negative during the observation period. A positive correlation has been found between high titles of ICA ($\geq 1 / 16$) and development of IDDM.

We have concluded from our prospective study during three years that of our antibody-positive relatives, 37.5 % have developed overt diabetes, all of them being less than fifteen years old, with high titles of ICA and ICA-CF positive.

J. pediatr. (Rio J.). 1996; 72(4):221-224: insulin-dependent diabetes, autoimmunity.

No momento atual, permanece a hipótese de que tenha relevante importância na patogênese da doença a interação entre a predisposição genética conferida principalmente pelos genes do sistema HLA (antígenos leucocitários de histocompatibilidade), os locus DR e DQ¹ e os fatores ambientais², em que se destacam as viroses³, os componentes dietéticos como a proteína do leite de vaca e de outros alimentos⁴, os nitritos e os nitratos⁵. Dessa interação resultaria uma agressão imunológica às células beta, determinada principalmente por citocinas, interleucina 1, γ -interferon e fator necrosante tumoral (TNF), secretados por linfócitos T e macrófagos⁶. Essas citocinas induziriam a destruição gradual das células beta, possivelmente mediada por óxido nítrico e outros radicais livres⁷.

No curso deste processo, observou-se o surgimento de vários auto-anticorpos como os ICA (anticorpos antiilhotas pancreáticas), os ICA-CF (anticorpos antiilhotas pancreáticas fixadores de complemento), os IAA (anticorpos antiinsulina) e os anti-GAD (anticorpos para descarboxilase do ácido glutâmico), que seriam detectáveis antes do diagnóstico do DMID e que, portanto, poderiam identificar grupos de alto risco para a doença^{1,8,9}. Este evento veio conceituar o DMID como uma moléstia crônica auto-imune, colocando em discussão a possibilidade de prevenção primária e/ou secundária desta entidade clínica¹⁰.

O presente estudo teve como objetivo determinar, através de um acompanhamento de familiares em 1º grau de pacientes com DMID, ICA e ICA-CF positivos, quantos evoluíram para o DMID e qual o tempo decorrido entre a 1ª detecção desses auto-anticorpos e o diagnóstico do diabetes.

Pacientes e Métodos

O estudo prospectivo foi realizado, em diferentes tempos, em oito indivíduos de diferentes famílias, familiares em 1º grau de pacientes com DMID regularmente atendidos no ambulatório de Diabetes da Disciplina de Diabetes e Metabologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ. Esses familiares foram selecionados por terem aceitado participar de estudo. Havia seis irmãs com idade média de 11,3 anos (mediana de 11,5; amplitude de variação de 8 a 15 anos), uma mãe com idade de 31 anos e um indivíduo na prole com idade de 9 anos. Foram realizadas, no mínimo, duas determinações de ICA e ICA-CF, por um período máximo de três anos.

A pesquisa de ICA e ICA-CF foi realizada de acordo

com a técnica de Bottazzo e colaboradores¹¹⁻¹³, utilizando-se como substrato tecido pancreático fresco obtido durante ato cirúrgico de indivíduo do sexo feminino do grupo sanguíneo O. O substrato foi mantido em nitrogênio líquido até posterior uso, sendo utilizado o mesmo substrato em todas as determinações. As reações foram inicialmente classificadas quanto à positividade em fracas (+), fortes (++) e muito fortes (+++ / ++++). Posteriormente determinaram-se os títulos finais dos ICA de acordo com o protocolo do *Immunology and Diabetes Workshops*^{12,14}. Os soros não diluídos foram expressos com títulos 1/1; quando diluídos, 25 ml de soro e 25 ml de PBS foram expressos com 1/2 e assim sucessivamente.

Resultados

O estudo prospectivo realizado evidenciou que dos oito familiares em 1º grau de pacientes com DMID, todos ICA e/ou ICA-CF positivos, três evoluíram para o diabetes, sendo duas irmãs e um indivíduo da prole cujo pai apresentava concomitância de DMID e doença tireoideana auto-imune. Todos eram ICA e ICA-CF positivos, classificados como de reações fortes com titulação dos ICA de 1/16 (um caso) e 1/32 (dois casos); tinham idades de 12, 14 e 9 anos, respectivamente, e todos eram do sexo feminino e pertenciam a diferentes famílias de DMID. O diagnóstico do diabetes ocorreu respectivamente 12, 21 e 8 meses após a primeira detecção dos ICA e ICA-CF. Do grupo estudado, dois irmãos persistiram com ICA e ICA-CF positivos por um e três anos, respectivamente. Em uma irmã e uma mãe com ICA positivo e em um irmão que era ICA-positivo, a reação tornou-se negativa após dois anos (Tabela 1).

Tabela 1 - Tempo de evolução para o diabetes e características dos ICA e ICA-CF

Grau de Parentesco	Idade (anos)	ICA* (título)	ICA-CF**	Tempo de positividade até o diagnóstico DMID	Número de determinações até o diagnóstico DMID
irmã	12	1:32	2+ / 4+	21 meses	2
irmã	14	1:16	2+ / 4+	8 meses	3
filha	9	1:32	2+ / 4+	9 meses	4

* ICA - titulação laboratorial

** ICA-CF - titulação baseada em leitura

Discussão

A casuística relatada neste estudo é representativa de alguns importantes aspectos da patogênese do DMID. Essa é uma das doenças crônicas mais comuns da infância e da adolescência, em indivíduos com menos de 15 anos, e apresenta uma grande variação mundial (de 0,6/100.000 habitantes na Coreia a 35,3/100.000 habitantes na Finlândia)¹⁵. Os três casos de nossa amostra que evoluíram para o DMID estavam na faixa etária de 9 a 14 anos, que é a de maior incidência da doença de acordo com a maioria dos estudos epidemiológicos, incluindo-se o realizado em Botucatu, Bauru e Rio Claro no estado de São Paulo^{15,16}.

Estudos prospectivos em familiares em 1º grau de pacientes com DMID têm demonstrado que os ICA e ICA-CF seriam importantes preditores de evolução para a doença¹⁷⁻²⁰, o que foi também por nós demonstrado no acompanhamento desses oito casos de familiares em 1º grau, dos quais três vieram a apresentar Diabetes Mellitus. Destacamos o fato de que atualmente a metodologia de detecção dos ICA utiliza soros ICA-positivos padronizados em unidade J.D.F. (*Juvenile Diabetes Foundation*), adquiridos de um laboratório que centraliza todas as padronizações, o que tem contribuído para diminuir a variação interlaboratorial^{12,14}. Entretanto sabe-se que existe uma grande correlação entre os resultados das duas metodologias^{21,22}.

Observamos que a evolução para o DMID foi correlacionada com a titulação dos ICA ($\geq 1/16$) e a presença de ICA-CF, não havendo nenhum caso com titulação $\leq 1/8$ que tenha evoluído para a doença durante o período de observação, o que está de acordo com a maioria dos relatos da literatura^{17,19,20}. Notamos também, que no tempo de observação de todo o grupo, três pacientes (37,5%), duas irmãs e um indivíduo na prole (filha), evoluíram para o DMID. Esse dado também é enfatizado em vários trabalhos que demonstram que, da constelação familiar, são os irmãos os que têm o maior risco de evoluir para a doença^{17,19}. Em relação à prole, existe um consenso do maior risco para o DMID quando o pai é acometido pela doença^{17,19}. O tempo de latência para o Diabetes desde a primeira detecção dos ICA e ICA-CF foi de aproximadamente 13 meses, referido na literatura de 10 a 57 meses^{19,20}.

Assume relevante importância o fato de que quatro indivíduos que persistiram com ICA $\leq 1/16$ e/ou ICA-CF não tenham evoluído para a doença, bem como o de um indivíduo que teve a reação negativada no período de observação. A discussão sobre esse evento é bastante complexa, inferindo-se que a baixa titulação desses auto-anticorpos tenha um menor valor preditivo¹, e que, no curso do processo patogênico da fase pré-diabética, possa haver abortamento da agressão imunológica às células beta, com conseqüente negatificação da reação e ausência de evolução para a doença¹. A utilização de outros auto-anticorpos como os IAA (anticorpos antiinsulina) e os anti-GAD (anticorpos para descarboxilase do ácido

glutâmico)²³ e a utilização dos marcadores metabólicos, isto é, a diminuição da 1ª fase de secreção insulínica no teste venoso de tolerância à glicose¹⁰, têm aumentado significativamente a probabilidade de previsão do DMID. Entretanto ainda questiona-se nesta fase, em que todos os marcadores imunológicos e metabólicos da doença estão presentes, o percentual de destruição das células beta permitiria a reversão para um estágio de total normalização metabólica através de diferentes intervenções terapêuticas^{11,19}.

Como não foi possível, no presente trabalho, o acompanhamento de todos os familiares de pacientes com DMID, nosso estudo permite-nos concluir apenas que, nos familiares por nós acompanhados, a análise da titulação dos ICA e da positividade ao ICA-CF foi um importante marcador de previsão para o DMID.

Referências bibliográficas

1. Bingley PJ, Bonifacio E, Gale EAM. Can we really predict IDDM? *Diabetes* 1993; 42: 213-220.
2. Bodansky HJ, Staines A, Stephenson C. Evidence for an environmental effect in the aetiology of insulin-dependent Diabetes in a transmigratory population. *British Medical Journal* 1992; 304: 1020-1021.
3. Lestie RDG, Elliott RB. Early environmental events as a cause of IDDM. *Diabetes* 1994; 43: 843-850.
4. Kostraba JN, Cruickshanks KJ, Heavener JL. Early exposure to cow's milk and solid foods in infancy, genetic predisposition and risk of IDDM. *Diabetes* 1993; 42: 288-295.
5. Virtanen SM, Jaakkola L, Räsänen L. Nitrate and nitrite intake and the response for type I Diabetes in Finnish children. *Diabetic Medicine* 1994; 11: 656-662.
6. Rabinovitch A. Immunoregulatory and cytokine imbalances in the pathogenesis of IDDM: therapeutic intervention by immunostimulation. *Diabetes* 1994; 43: 613-621.
7. Corbett JA, McDaniel ML. Does nitric oxide mediate autoimmune destruction of b-cells? Possible therapeutic intervention in IDDM. *Diabetes* 1992; 41: 897-903.
8. Landin-Olson M, Palmer JP, Lernmark A. Predictive value of islet-cell and insulin auto-antibodies for type I insulin-dependent Diabetes Mellitus in a population-based study of newly-diagnosed diabetic and matched control children. *Diabetologia* 1992; 35: 1068-1073.
9. Gomes MB, Vieira LMM, Marques EP. Prevalence of auto-antibodies in simplex and multiplex families of Brazilian insulin-dependent diabetic patients. *Brazilian Journal of Medical Biological Research* 1991; 24: 375-381.
10. Eisenbarth GS, Vege CF, Allen H. The design of trials for prevention of IDDM. *Diabetes* 1993; 42: 941-947.
11. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies with Diabetes Mellitus autoimmune polyendocrine deficiency. *Lancet* 1974; 2: 1279-1282.
12. Bottazzo GF, Gleichmann H. Immunology and Diabetes workshop on the First International Workshop on the standardisation of cytoplasmic islet-cell antibodies. *Diabetologia* 1986; 29: 125-126.

13. Bottazzo GF, Gorsuch AN, Dean BM. Complement-fixing islet-cell antibodies in type I Diabetes: possible monitors of active beta cell damage. *Lancet* 1980; 1: 668-672.
14. Bonifacio E, Boitard C, Gleichmann H. Assesment of precision, concordance, specificity and sensitivity of islet-cell antibody measurement in 41 assays. *Diabetologia* 1990; 33: 731-736.
15. Marcus K, Tuomilehto J, Libman I. A review of the recent epidemiological data on the worldwide incidence of type I (insulin-dependent) Diabetes Mellitus. Organization Diamond Project Group. *Diabetologia* 1993; 36: 883-893.
16. Ferreira SRG, Franco LJ, Vivolo MA. Population-based incidence of IDDM in the state of São Paulo, Brazil. *Diabetes Care* 1993; 16: 701-704.
17. Riley A. A prospective study of the development of Diabetes in relatives of patients with DMID. *N. Eng. J. Med.* 1990; 323: 1167-1170.
18. Bottazzo GF, Mann JF, Throgood M. Autoimmunity in juvenile diabetics and their families. *Lancet* 1980; 1: 668-672.
19. Chase HP, Voss MA, Simon N. Diagnosis of pre-type I Diabetes. *J. Pediatrics* 1982; 31: 1115-1118.
20. Tarn AC, Dean BM, Schawrz G. Predicting insulin-dependent Diabetes. *Lancet* 1988; 1: 845-850.
21. Karjalainen JK. Islet-cell antibodies as predictive marker for DMID in children with high background of disease. *Diabetes* 1990; 39: 1144-1150.
22. Samuelson V, Ludvigsson J, Bottazzo GF. Indications for a more aggressive disease process in newly diagnosed insulin-dependent diabetic children in northern than in southern Europe. *Acta Diabetologica* 1994; 31: 98-102.
23. Bingley PJ, Christie MR, Bonifacio E. Combined analyses of auto-antibodies improves prediction of IDDM in islet-cell antibody positive relatives. *Diabetes* 1994; 43: 1304-1310.

Endereço para correspondência:

Dra. Marília de B. Gomes

Disciplina de Diabetes e Metabologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto

Boulevard 28 de Setembro , 77 - 3º andar - Vila Isabel
Rio de Janeiro - CEP 20551-030

Tel.: (021) 264-6222 - R. 6468