

PREVALÊNCIA DOS MARCADORES IMUNOLÓGICOS ANTI-GAD E ANTI-IA2 EM PARENTES DE PRIMEIRO GRAU DE DIABÉTICOS DO TIPO 1 EM AMOSTRA DA POPULAÇÃO DA GRANDE SÃO PAULO

PAULO ROBERTO CESARINI*, EURICO MENDONÇA, VÂNIA FERNANDES, REGINA DO CARMO SILVA, LÍLIAN K. MORIMITSU, FÁBIO E. GARCIA, STELLA VECHIATTI, WALKÍRIA L. MIRANDA, SÉRGIO ATALA DIB

Trabalho realizado na Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina -
Disciplina de Endocrinologia – Centro de Diabetes, São Paulo, SP

RESUMO – O diabetes tipo 1A (DMI) é causado por mecanismo auto-imune contra células beta em indivíduos com predisposição genética. Auto-anticorpos anti-GAD e anti-IA2 são considerados importantes marcadores destas alterações, cuja prevalência variam, segundo a população estudada e história familiar. Dados sobre frequência desses marcadores na população brasileira são escassos.

OBJETIVOS. Avaliar a frequência de anti-GAD e anti-IA2 em parentes de primeiro grau de portadores de DMI (PDMI) em amostra da população da Grande São Paulo.

MÉTODOS. Quarenta e oito jovens PDMI foram recrutados junto a 36 propósitos assistidos em ambulatórios especializados em diabetes da Grande São Paulo, apresentando mediana de idade de 14,5 anos (6,7 a 17,9 anos). Os valores de referência do anti-GAD foram obtidos utilizado-se soros de 194 voluntários normais, sem antecedentes familiares de DMI, com idade de 9,7 a 64,0 anos (mediana

de 13,4). Soros de 71 indivíduos normais com idade variando de 11,1 a 15,2 anos (Mi= 12,6) foram submetidos à dosagem de anti-IA2. As dosagens dos marcadores foram através do radioensaio (KRONUS®, Idaho, USA). Valores acima do 99º percentil obtido no grupo controle foram considerados positivos.

RESULTADOS. O 99º percentil correspondeu ao valor 1,72 U/ml para o anti-GAD e 0,97 U/ml para o anti-IA2. Cinco indivíduos dos PDMI (10,4%) foram positivos para o anti-GAD, contra 0,5% dos controles (P<0,01). Um jovem do grupo PDMI mostrou-se positivo para o anti-IA2 (2,1%), com frequência semelhante aos controles.

CONCLUSÃO. O anti-GAD mostrou maior prevalência entre os PDMI, não havendo diferença entre o PDMI e controles quanto à frequência de anti-IA2.

UNITERMOS: Diabetes Mellitus Tipo 1. Autoanticorpos. População brasileira.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus do tipo 1 (DMI), também conhecido como diabetes juvenil, devido à maioria dos casos surgir na juventude, ou como insulino-dependente, porque necessitam de insulina exógena para a sobrevivência é atualmente considerado como uma doença auto-imune órgão-específica.

O diabetes mellitus do tipo 1 (DMI) é considerado problema de saúde pública de importância crescente. O aumento de sua incidência é observado em diversas comunidades^{1,2}.

O diabetes do tipo 1 clássico ou tipo 1A³ (DMI) é considerado a forma mais prevalente de diabetes da infância e adolescência. Trata-

se de doença de etiologia auto-imune, caracterizada pela presença de auto-anticorpos contra constituintes da célula β pancreática levando à sua autodestruição⁴⁻⁷. Há diminuição progressiva da função secretora dessas células, que se traduz inicialmente pela perda da primeira fase da secreção de insulina e elevação gradual dos níveis glicêmicos^{8,9}. Há, assim, um período mais ou menos longo de “latência”, de pouca expressão clínica, que pode preceder a eclosão da doença em vários anos.

O DMI tem distribuição universal, apresentando incidência variável segundo a população estudada¹⁰. No Brasil, Ferreira et al.¹¹ encontraram incidência de 7,6/100.000 por ano em população de jovens com idade inferior a quinze anos. No sexo feminino, a maior incidência foi observada no grupo etário de 5 a 9 anos e, no sexo masculino, entre 10 e 14 anos.

Estudos em diferentes grupos étnicos sugerem que a suscetibilidade genética para o DM 1 está associada à presença de certos antígenos de histocompatibilidade (*histocom-*

patibility leucocyte antigen - HLA). Observou-se que haplótipos HLA-DR3 e DR4 estão presentes em 90 a 95% dos diabéticos do tipo 1 europeus caucasianos¹². Em amostra da população brasileira com DMI, caracterizada por um alto grau de miscigenação¹³⁻¹⁵, evidenciou-se igualmente associação desses haplótipos com a presença da doença¹⁶⁻¹⁸.

Há aproximadamente três décadas, com a descoberta dos auto-anticorpos anti-ilhotas pancreáticas¹⁹, o papel da auto-imunidade na etiopatogenia do DMI foi reforçado. Os primeiros auto-anticorpos descritos foram os anti-ilhotas (*islet cell antibody* - ICA)²⁰ e os anti-insulina (AAI)^{21,22}. Embora o significado patogênico desses auto-anticorpos não esteja bem caracterizado, a sua dosagem tem possibilitado a detecção de indivíduos com maior risco para o desenvolvimento da doença. Por exemplo, os portadores de ICA possuem um risco para desenvolver o DMI de até 42% e quando associado à presença de AAI, de 77%²³ em prazo menor que dez anos.

*Correspondência:

Rua Dr. Diogo de Faria, 929 – apto. 141
Vila Clementino – São Paulo – SP
CEP: 04037-003
lucivalmel@uol.com.br

Posteriormente, foram descritos mais dois auto-anticorpos nos pacientes com DM1. Estes reagem contra duas enzimas, a descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD)²⁴ e a tirosina fosfatase (anti-IA2)²⁵. Esses auto-anticorpos e os ICA e AAI aumentaram significativamente a capacidade de determinar o risco de desenvolvimento do DM1 em parentes com a doença. A sensibilidade do anti-GAD e IA2, tomados em conjunto para o diagnóstico do DM1, pode chegar a 91% entre os pacientes que tiveram início da doença antes dos 16 anos, contra 74% obtida com a dosagem apenas do ICA²⁶.

Apesar do reconhecido valor dos marcadores em estudos envolvendo parentes de primeiro grau de diabéticos do tipo 1, a sua real utilidade, em estudos na população geral, é ainda alvo de discussões. Embora haja evidências da capacidade dos auto-anticorpos em avaliar o risco de DM1 na população geral²⁷, amplo estudo prospectivo ressaltou menor valor preditivo de anti-GAD e IA2 em jovens sem história familiar de DM1²⁸.

Os dados disponíveis sobre a frequência desses marcadores imunológicos na população brasileira são ainda limitados, sendo necessários estudos adicionais para se avaliar a sua prevalência e o seu valor preditivo na nossa população.

Objetivo do estudo

Analisar a prevalência dos auto-anticorpos anti-células β pancreáticas (anti-GAD e anti-IA2) em crianças de idade escolar e adolescentes da Grande São Paulo.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS

Indivíduos

Um total de 48 crianças e adolescentes parentes de primeiro grau (irmãos) de portadores de diabetes do tipo 1 (PDM1) foram recrutados junto às famílias de 36 portadores assistidos em instituições localizadas na área metropolitana da Grande São Paulo: Centro de Diabetes da Escola Paulista de Medicina da UNIFESP, Hospital do Servidor Público Municipal, Hospital Cândido Fontoura, Hospital Infantil Darcy Vargas e Associação do Diabetes Juvenil (ADJ). O grupo PDM1 apresentava mediana de idade de 14,5 anos, com variação de 6,7 a 17,9 anos. Para a determinação dos valores de referência do anti-GAD e do anti-

IA2, foram utilizados soros de 194 voluntários que compunham grupo cuja mediana de idade era de 13,4 anos (variando de 9,7 a 64,0 anos), com glicemia de jejum normal (inferior a 110 mg/dl) e sem antecedentes familiares de DM1, abordados junto aos ambulatórios das referidas instituições e de escola municipal de Diadema (SP). Soro de setenta e um indivíduos desse grupo foram submetidos à dosagem de anti-IA2 séricos.

O presente estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (processo de número 568/99). Termo de consentimento esclarecido foi assinado pelos pais e responsáveis legais que concordaram em colaborar no estudo.

MÉTODOS

Glicemia, anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico e anti-tirosina fosfatase

Os participantes tiveram o sangue coletado no período matutino por punção de veia periférica, após 12 horas de jejum. As amostras foram centrifugadas e o soro obtido era separado em frascos revestidos de silicone para dosagem da glicemia de jejum. O soro era congelado à temperatura de -10°C e, posteriormente, estocado a -70°C , para posterior dosagem dos auto-anticorpos anti-GAD e anti-IA2.

A dosagem da glicose sérica por método enzimático baseado em reação envolvendo o enzima glicose-oxidase (Merckotest, Bayer Diagnóstica, Rio de Janeiro RJ, Brasil). Os valores normais obtidos em dosagem em soro situam-se entre 75 a 110 mg/dl.

Os ensaios para avaliação dos auto-anticorpos anti-GAD e anti-IA2 foram avaliados no laboratório da Disciplina de Endocrinologia da UNIFESP através de radioensaio, utilizando-se GAD e IA2 humanos recombinantes liofilizados marcados com isótopo 125 do iodo (Kronus, Inc., Boise, ID, EUA). O ensaio para anti-GAD apresenta coeficiente de variação intra-ensaio de 3,1% para valor médio de 4,2 U/ml, 2,9% para valor médio de 27,2 U/ml e coeficiente de variação interensaio de 3,6% (4,2U/ml) e 5,1% (25,0U/ml) (níveis de controle baixo e alto, respectivamente).

O método para a detecção do IA2 apresenta coeficiente de variação intra-ensaio de 2,9% para valor médio de 7,4 U/ml e 3,5%

para valor médio de 31,7 U/ml. Seu coeficiente de variação interensaio é de 7,2% (8,10U/ml) e 2,1% (39,3U/ml) (níveis de controle baixo e alto, respectivamente). Estabeleceu-se o critério de positividade a partir de dados obtidos na dosagem de anti-GAD e anti-IA2 no soro dos indivíduos do grupo controle normal. Os valores superiores ao nonagésimo nono percentil (99^o) foram considerados positivos.

A análise comparativa dos títulos de anti-GAD e IA2 dos dois grupos foi efetuada empregando-se o teste t de Student para amostras independentes. Fixou-se em 0,05 ou 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade. Os cálculos foram efetuados com o auxílio do programa de informática *SigmaStat Software* (Jandel Inc, EUA).

RESULTADOS

A mediana de idade dos adolescentes dos grupos controle e PDM1 foram semelhantes, apresentando os primeiros maior variação (Controles: $M_i = 13,4$ com variação de 9,7 a 64,0; PDM1: $M_i = 14,5$ anos, variando de 6,7 a 17,9 anos). O grupo controle apresentou maior média de glicemia de jejum em relação ao PDM1 ($91,1 \pm 9,7$ vs $87,7 \pm 8,9$ mg/dl; $p < 0,002$).

A análise dos 194 indivíduos do grupo controle do anti-GAD revelou valor médio de títulos de $0,21 \pm 0,27$ U/ml, variando de 0,01 a 1,98 U/ml. Em relação ao anti-IA2, a análise de 71 soros mostrou a média de valor médio de $0,21 \pm 0,24$ U/ml, com variação de 0,01 a 0,97 U/ml.

Os PDM1 apresentaram títulos médios de $0,50 \pm 1,35$ U/ml (variação de 0,01 a 7,52 U/ml) para anti-GAD e $0,28 \pm 0,64$ U/ml (0,01 a 4,40 U/ml) para o anti-IA2.

A análise comparativa entre os grupos mostrou títulos mais elevados de anti-GAD no grupo PDM1 em relação aos controles ($0,50 \pm 0,27$ vs $0,21 \pm 0,27$ U/ml, $p = 0,01$). Os dois grupos não diferiram quanto aos títulos de anti-IA2 ($0,28 \pm 0,64$ vs $0,21 \pm 0,24$ U/ml, PDM1 e controles, respectivamente, $p = 0,43$) (Tabela 1).

O 99^o percentil dos valores de anti-GAD obtidos nos controles correspondeu a 1,72 U/ml. Cinco indivíduos no grupo PDM1 (10,4%) apresentaram valores acima desse limite, sendo considerados positivos para esse auto-anticorpo. Assim, obtivemos frequência

Tabela 1 – Comparação dos níveis séricos dos auto-anticorpos anti-GAD e anti-IA2 encontrados no grupo PDM1 (N=48) e controles (N= 194 para anti-GAD e 71 para IA2)

	PDM1	Controles	P
ANTI-GAD (U/mL)	0,50 ± 1,35	0,21 ± 0,27	P=0,01
ANTI-IA2 (U/mL)	0,28 ± 0,64	0,21 ± 0,24	NS

Tabela 2 – Frequência dos auto-anticorpos anti-GAD e anti-IA2 nos grupos PDM1 (N=48) e controles (N= 194 para anti-GAD e 71 para IA2)

	PDM1	Controles	P
ANTI-GAD (U/mL)	5 / 48* (10,4%)	1 / 194 (0,5%)	P<0,01
ANTI-IA2 (U/mL)	1 / 48 (2,1%)	0 / 71 (0%)	NS

Os valores estão expressos em número de indivíduos positivos sobre o total e, entre parênteses, a frequência de positividade para o anticorpo.

Figura 1 – Títulos individuais do marcador anti-GAD nos grupos controle (Controle; N= 194), parentes de DMI (PDM1, N=48); (PDM1 vs Controle, P<0,01)

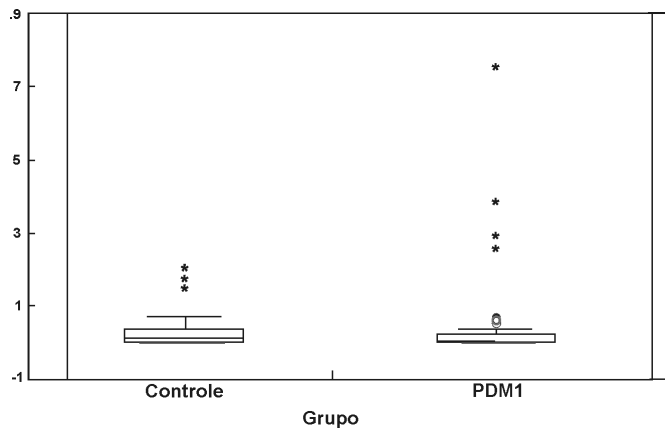
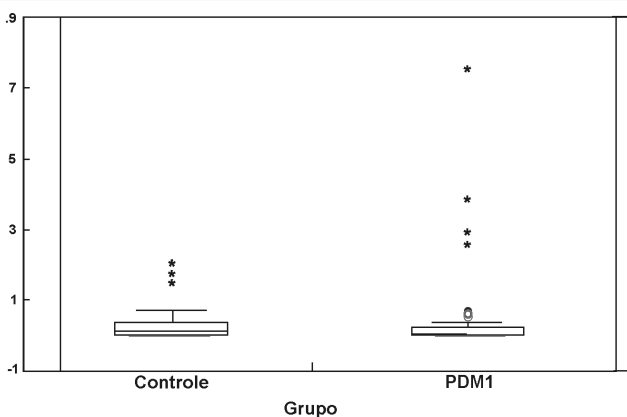


Figura 2 – Títulos individuais do marcador anti-IA2 nos grupos controle (Controle, N=71), parentes de DMI (PDM1, N=48) (PDM1 vs Controle, P=0,45)



maior de positividade em relação ao grupo controle (10,4 vs 0,5%, P<0,01). Em relação ao anti-IA2, valor acima de 0,97 U/ml (99º percentil) foi observado em um jovem (2,1%) do grupo PDM1. Este indivíduo também mostrou positividade para o anti-GAD. Os grupos PDM1 e Controles não mostraram diferença significativa em relação à presença de indivíduos positivos para anti-IA-2 (Tabela 2 e Figuras 1 e 2).

DISCUSSÃO

No presente estudo, a frequência de positividade de 10,4% para o auto-anticorpo anti-GAD e 2,4% para o anti-IA2 observada entre os PDM1 foi elevada, se comparada aos dados obtidos em estudos de amostras populacionais do hemisfério norte, com taxas que oscilam em torno de 2,7 e 0,2% para anti-GAD e anti-IA2, respectivamente. Entretanto, a concomitância dos dois auto-anticorpos foi de 2,1% (um em 48 indivíduos), valor muito próximo à frequência de 1,8% descrita²⁹ nesses estudos.

A detecção de “frações” do ICA, como os anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD65) e o anti-tirosinafosfatase (IA2), acrescentou maior acurácia na detecção do indivíduo de risco para o DMI^{27,30}. Verge et al. avaliaram o valor preditivo dos marcadores anti-GAD, IA2 e AAI³¹ em parentes de primeiro grau. Os autores observaram que 65% dos indivíduos portadores de dois dos auto-anticorpos apresentaram diabetes no prazo de cinco anos, e todos aqueles que apresentavam positividade para os três marcadores contraíram a doença naquele período. Estudo envolvendo 2855 crianças de idade escolar mostrou risco estimado para o desenvolvimento do diabetes em 71% quando da detecção de pelo menos dois marcadores, entre ICA, anti-GAD e IA2²⁷. Por ocasião do diagnóstico de DMI, crianças e adolescentes apresentaram maior frequência de cada um dos diversos marcadores avaliados (ICA, AAI, anti-GAD ou IA2), quando comparadas a grupos adultos³². Tais observações são concordantes com evidências da maior prevalência de marcadores em idades menores^{22,33}, podendo refletir agressão imunológica mais intensa contra a célula beta e a maior importância desses marcadores nessa faixa etária. Estudo prospectivo no qual grupo de 3000 adolescentes com mediana de idade de

14 anos, avaliados quanto à presença de anti-GAD, IA2 e ICA, evidenciou que apenas os indivíduos com positividade para mais de um anticorpo (0,2% da amostra) desenvolveram DMI após oito anos de acompanhamento, representando 100% de sensibilidade e 50% de valor preditivo positivo³⁴. Portanto, o anti-GAD e o anti-IA2 apresentam, em conjunto, sensibilidade e especificidade suficientemente elevadas para serem utilizados em estudos populacionais^{26,29,35}.

A experiência prévia obtida em nosso laboratório, com o radioensaio para dosagem de anti-GAD utilizado no presente estudo, revelou satisfatórios índices de especificidade (95,6%), de sensibilidade (86,7%), mostrando valor preditivo positivo de 74,3% e valor preditivo negativo de 98,0% para o DMI³⁶.

Pequeno número de estudos bem conduzidos abordou a frequência de auto-anticorpos entre portadores de DMI ou parentes de primeiro grau no Brasil. Gomes et al. avaliando grupo de pacientes com DMI, com tempo médio de doença de 18,8 meses, constataram que 33% apresentaram positividade para o ICA³⁷. Deve ser salientado, todavia, que o referido estudo incluiu portadores de diabetes de até 10 anos de diagnóstico, o que pode ter influenciado nas taxas de positividade, uma vez que os títulos de ICA decaem progressivamente após o diagnóstico. Em estudos efetuados em nosso laboratório, na Disciplina de Endocrinologia da UNIFESP, avaliando-se grupo de diabéticos do tipo I de início recente, exclusivamente formado por pacientes com tempo de manifestação clínica de até seis meses, observou-se 68% a 73,4% de positividade para ICA^{38,39}. Estudos de prevalência de AAI, também efetuados em nosso laboratório, avaliando-se indivíduos diabéticos do tipo I de início recente, 37,5% a 56% mostraram positividade para o marcador^{38,40,41}. Em estudo recente, também efetuado em nosso serviço, França et al. observaram prevalência de 87,6% de positividade para o anti-GAD em grupo de pacientes de DMI de início recente³⁶. A concomitância dos dois auto-anticorpos foi registrada em 36% dos casos³⁸. Pardini et al., avaliando pacientes com até 12 meses de evolução, encontraram frequência de 80% para anti-GAD, reatividade de 62,9% para IA2, com positividade de 82,9% para

um ou mais marcadores⁵¹. Em pacientes com mais de um ano de doença, a positividade para os dois auto-anticorpos foi demonstrada em 54,1% e em 67,5% deles para pelo menos um marcador⁴².

Estudos em amostras da população brasileira avaliando a frequência de auto-anticorpos em familiares de diabéticos do tipo I mostram positividade para o ICA variando entre 5,6% e 13,5%^{38,43}, e positividade de 3,5% a 18,7% para o AAI^{38,40,41,43}. Alves et al. estudaram grupo de 538 indivíduos brasileiros, composto em sua maioria por parentes de primeiros, mas também de segundo grau de diabéticos do tipo I, o anti-GAD mostrou-se positivo em 3,5% e o IA2 em 3,6% dos indivíduos⁴³. No referido estudo, abrangendo faixa etária bastante larga (de um a 60 anos), a exemplo dos dados obtidos em outros países^{22,32,33}, observou-se os maiores títulos de auto-anticorpos em idade abaixo dos 20 anos e em irmãos de indivíduos portadores de DMI.

A positividade de 10% encontrada para anti-GAD em nosso estudo foi significativamente mais alta se comparada aos 3,5% obtidos por Alves et al.⁴³ em brasileiros parentes de diabéticos do tipo I. O anti-IA2 mostrou-se positivo em 3,6%, valor próximo aos 2,7% obtidos no presente estudo. Os mesmos autores mostraram que tanto a positividade exclusiva para o anti-GAD como a presença de mais de dois dos auto-anticorpos (ICA, AAI, Anti-GAD e anti-IA2) relacionam-se a risco aumentado de DMI, sobretudo em irmãos dos propósitos⁴³. A maior prevalência do anti-GAD encontrada no presente estudo pode ser explicada, ao menos em parte devido à faixa etária mais jovem avaliada. É possível também que outros aspectos do grupo estudado, formado exclusivamente por irmãos, junto às características genéticas de nossa população e ainda ao tamanho da amostra explicassem, pelo menos em parte, a prevalência para o anti-GAD maior que a esperada.

A positividade de 0,5% encontrada entre 194 indivíduos do grupo controle para o anti-GAD e a ausência de indivíduos simultaneamente positivos para anti-GAD e anti-IA2 nesse grupo é concordante aos dados obtidos por Bingley et al.²⁷ e pelo grupo de LaGasse³⁴. Estes autores obtiveram, a partir da avaliação de 4505 adolescentes da população geral em idade escolar, a frequência de positividade de 2,3% para

um único marcador (anti-GAD, IA2 ou AAI) e 0,3% para dois ou mais marcadores³⁵. Por outro lado, a frequência de 10,4% foi maior que os 4,5% observados em estudo envolvendo população do hemisfério norte²⁹.

A validade de programas de prospecção de marcadores na população geral ainda é alvo de discussão. Foram observadas frequências próximas de positividade dos marcadores entre os parentes de primeiro grau de diabéticos do tipo I e a população geral^{27,29}. Os dados de Knip et al. sugerem que a presença de autoanticorpos teria maior capacidade de predição de DMI em parentes de primeiro grau de diabéticos do que em indivíduos sem história familiar³⁷. Os recentes resultados obtidos pelo grupo de LaGasse³⁴ mostraram que a presença de dois ou mais marcadores detectados em adolescentes de 14 anos puderam identificar, prospectivamente, todos aqueles que desenvolveram DMI no prazo de oito anos. Por outro lado, durante o seguimento, seis de doze pacientes com positividade para dois ou mais marcadores dos indivíduos desenvolveram diabetes. Estudos são necessários para se determinar se as implicações futuras da ocorrência de auto-anticorpos seriam condicionadas por fatores genéticos de predisposição para a doença.

A *Immunology Diabetes Society* (IDS), em seu último consenso⁴⁴, ratificou a utilização do anti-GAD combinado com a dosagem de anti-IA2 (ou AAI), como estratégia de detecção de indivíduos de risco para o DMI, como o efetuado no presente estudo. Todavia, é importante observar que, na avaliação de crianças menores de dez anos, os três marcadores (anti-GAD, anti-IA2 e AAI) devem ser incluídos já no primeiro teste. Conforme a IDS, indivíduos com positividade confirmada para múltiplos marcadores ou portador de títulos elevados devem ser submetidos a testes metabólicos e endócrinos, como a avaliação de tolerância à glicose e o estudo da primeira fase de secreção de insulina. Como exemplo, em nosso estudo, um dos participantes do grupo PDMI com 14,6 anos de idade, que apresentava glicemia de 78 mg/ml, e títulos de anti-GAD de 7,52 U/ml e de anti-IA2 de 4,41 U/ml, preenchia critérios indicativos dessas avaliações.

Ao contrário do que se possa supor, o óbito no início do DMI ainda é frequente. Infelizmente, em muitas circunstâncias, na assistência primária, a criança DMI não tem a

doença diagnosticada adequadamente, o que concorre para o aumento do risco de complicações agudas e óbito. A mortalidade observada no início do DMI está relacionada à atenção pública ao diabetes. No estado norte-americano do Colorado, cerca de uma criança morre no início do diabetes a cada dois anos, casos que estão associados a diagnóstico retardado⁴⁵. A detecção de auto-anticorpos, marcadores da fase pré-clínica da doença, é importante para o seguimento e orientação de crianças com elevado risco de evoluírem para o DMI manifesto.

O presente estudo visou fornecer subsídios para programas de prevenção e rastreamento do diabetes mellitus. Os resultados obtidos devem ser acrescidos de amplos estudos genéticos, imunológicos e metabólicos que envolvam várias comunidades. Tais estudos permitirão caracterizar o grupo de risco para o diabetes do tipo I em nossa população, proporcionando a utilização de recursos humanos e técnicos de forma racional, priorizando aqueles indivíduos com maior probabilidade de desenvolvimento da doença e das complicações crônicas relacionadas, com grande impacto na esperança de vida. Até que o DMI possa ser curado ou prevenido, a identificação de indivíduos de risco proporciona a oportunidade de acompanhamento clínico e educação precoces.

CONCLUSÃO

No grupo dos parentes de primeiro grau de diabetes do tipo I encontrou-se maior prevalência do marcador sorológico anti-GAD, sugerindo que este seria o mais importante auto-anticorpo entre os avaliados no presente estudo, a ser considerado em futuros estudos de detecção de risco de DMI na população brasileira.

SUMMARY

PREVALENCE OF IMMUNOLOGICAL MARKERS (ANTI-GAD AND ANTI-IA2) IN FIRST-DEGREE RELATIVES OF PATIENTS WITH TYPE I DIABETES IN GREAT SÃO PAULO CITY

BACKGROUND. Increasingly accurate prediction of Type I Diabetes Mellitus (DM1), based on analysis of autoantibody markers, has become possible in first-degree relatives of patients with diabetes (PDM1). These markers indicate autoimmune process against pancreatic islet

beta-cells. Anti-GAD and anti-IA2 are considered predictive of DM1, whose prevalences are considerably variable in different populations studied. There are few data about the frequency of these markers on the Brazilian population. The aim of this study is determine the prevalence of positivity for anti-GAD and for anti-IA2 among DM1 patients first-degree relatives (PDM1) in a sample of the Brazilian population of Great São Paulo City.

METHODS. Forty-eight children and adolescents PDM1 with median of age of 14.5 years (range 6.7 to 17.9 years). Anti-GAD and anti-IA2 was measured by radioassay (Kronus®, USA). The cut-off limit for both antibodies was set at the 99th percentile from normal subjects serum samples (anti-GAD: n=194; Median of age=13.4 yrs; range 9.7 to 64 yrs; anti-IA2: n=71; Median of age=12.6; range 11.1 – 15.2 yrs). A subject was considered to be positive for anti-IA2 if specific binding exceeded the 99th among the analysis of 71 subjects. The limit to positivity was 1.72 U/ml to anti-GAD and 0.97 U/ml to anti-IA2.

RESULTS. Five PDM1 (10.4%) have showed positivity to anti-GAD, with significantly higher prevalence than controls (P<0.01). The anti-IA2 prevalence rate seems to be equivalent between PDM1 and controls.

CONCLUSION. The prevalence of anti-GAD has been more prevalent among the PDM1. No differences were observed between prevalences for anti-IA2 showed by PDM1 and controls. [Rev Assoc Med Bras 2003; 49(4): 395-400]

KEY WORDS: Type I Diabetes Mellitus. Autoantibodies. Brazil.

REFERÊNCIAS

1. Onkamo P, Vaananen S, Karvonen M, Tuomilehto J. Worldwilde increase in incidence of type I diabetes: analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia* 1999; 42: 1395-403.
2. Rosebloom AL, Joe JR, Young RS, Winter WE. Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth. *Diabetes Care* 1999; 22:345-54.
3. American Diabetes Association. Report of the expert on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1999; 22(suppl 1):S5-S19.
4. Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* 1986; 314:1360-8.
5. Schloot NC, Roep BO. Islet antigen-specific T cell clones in autoimmune diabetes: from mice to men. *Diabetes Metab Rev* 1997; 13:127-38.

6. Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus: review. *Cell* 1996; 85:291-7.
7. Bach JF. Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocr Rev* 1994; 15:516-42.
8. Vardi P, Crisa L, Jackson RA. Predictive value of intravenous glucose tolerance test insulin secretion less than or greater than first percentile in islet cell antibody positive relatives of Type I (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1991; 34:93-102.
9. Bleich D, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Analysis of metabolic progression to Type I diabetes in ICA⁺ relatives of patients with type I diabetes. *Diabetes Care* 1990; 13:111-8.
10. Karvonen M, Viik-Karjander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type I diabetes worldwide. *Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. Diabetes Care* 2000; 23:1516-26.
11. Ferreira SRG, Franco LJ, Vivolo MA, Negrato CA, Simões ACP, Ventureli CR. Population-based incidence of IDDM in the state of São Paulo, Brazil. *Diabetes Care* 1993; 16:701-4.
12. Wolf E, Spencer, KM, Cudworth AG. The genetic susceptibility of type-I (insulin dependent) diabetes: analysis of HLA-DR association. *Diabetologia* 1983; 24:224-9.
13. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. Pesquisa Nacional por amostra de Domicílios de 1987: cor da população região metropolitana de São Paulo. *Periódico Anual* 1987; 2:218.
14. Prado Jr C. Formação do Brasil Contemporâneo. São Paulo: Editora Brasiliense/Publi-folha; 2000. p.81-113.
15. Ribeiro D. O povo brasileiro. Estudos de Antropologia da Civilização. São Paulo: Companhia das Letras; 1995. p.228-44.
16. Eizirik DL, Monteiro CMC, Voltarelli JC, Foss, MC. Frequency of HLA antigens in a Brazilian type I diabetic population. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20:533-7.
17. Marques SBD, Volpini W, Caillat-Zucman S, Lieber S, Pavin EJ, Persoli LB. Distribution of HLA-DRB1 alleles in a mixed population with insulin-dependent diabetes mellitus from the Southeast of Brazil. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31:365-8.
18. Volpini WMG; Testa GV, Marques SBD, Alves LI, Silva MER, Dib SA, et al. Family-based association of HLA Class II alleles and haplotypes with type I diabetes in Brazilians reveals some characteristics of a highly diversified population. *Hum Immunol* 2001; 62:1226-33.
19. Bottazzo G, Lorin-Christiansen A, Doniach D. Islet cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 1974; 2:1279.
20. Bottazzo GF, Geichmann H. Immunology and diabetes workshops: report of the first International Workshop on the standartization of cytoplasmic islet cell antibodies. *Diabetologia* 1986; 29:125-6.
21. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K.; Tatpati O, Raghu PK, et al. Insulin autoan-

- tibodies in insulin-dependent diabetes before insulin treatment. *Science* 1983; 222:1337-9.
22. Vardi P, Dib SA, Tuttelman M, Connelly JE, Grinsbergs-Radizabeh A, Riley WJ, et al. Competitive insulin autoantibody assay. Prospective evaluation of subjects at risk for development of Type I diabetes mellitus. *Diabetes* 1987; 36:1286-91.
 23. Ziegler AG, Herskowitz RD, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Predicting Type I diabetes. *Diabetes Care* 1990; 13:762-75.
 24. Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, Rietz A, Solimena M, Cascalho M, et al. Identification of the 64K autoantigen, in insulin-dependent diabetes mellitus as GABA-synthetizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990; 347:151-156.
 25. Rabin DU, Pleasic SM, Shapiro JA, Yoo-Warren H, Oles J, Hicks JM, et al. Islet cell antigen 512 is a diabetes-specific islet autoantigen related to protein tyrosine phosphatase. *J Immunol* 1994; 152:3183-8.
 26. Wiest-Landenburger U, Hartmann R, Hartmann U, Berling K, Böhm BO, Richter W. Combined analysis and single-step Detection of GAD65 and IA2 autoantibodies in IDDM can replace the histochemical islet cell antibody test. *Diabetes* 1997; 46:565-571.
 27. Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJK, Genovese S, Bottazzo GF, Gale EAM. Prediction of IDDM in general population. Strategies based on combinations of autoantibody markers. *Diabetes* 1997; 46:1701-10.
 28. Knip M, Karjalainen J, Akerblom HK. Islet cell antibodies are less predictive of IDDM among unaffected children in general population than in sibs of children with diabetes. The Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes Care* 1998; 21:1670-3.
 29. Bingley PJ, Colman P, Eisenbarth GS, Jackson RA, McCulloch DK, Riley, et al. Standardization of intravenous glucose tolerance test for use in prediction of insulin dependent diabetes. *Diabetes* 1992; 15:1313-6.
 30. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, Yu L, Pietropaolo M, Jackson RA, et al. Prediction of Type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bc/IA2 autoantibodies. *Diabetes* 1996; 45:926-33.
 31. Sabbah E, Savola K, Ebeling T, Kulmala P, Vähäsalo P, Ilonen J, et al. Genetic, autoimmune, and clinical characteristics of childhood- and adult-onset type I diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23:1326-32.
 32. Vanderwalle CL, Falorni A, Svanholm S, Lenmark 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. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:846-51.
 33. LaGasse JM, Brantley MS, Leech NJ, Rowe RE; Monks S, Palmer JP. Successful prospective prediction of type I diabetes in schoolchildren through multiple defined autoantibodies. *Diabetes Care* 2002; 25:505-11.
 34. Dittler J, Seidel, Schenker M, Ziegler AG. GADIA2-Combi determination as first-line screening for improved prediction of type I diabetes in relatives. *Diabetes* 1998; 47:592-7.
 35. Seissler J, Morgenthaler NG, Achenbach P, Lampeter EF, Glawe D, Payton M, et al. The DENIS Study Group: Combined screening for autoantibodies to IA2 and antibodies to glutamic acid decarboxylase in first degree relatives of patients with IDDM. *Diabetologia* 1996; 39:1351-6.
 36. França AP, Bezerra DL, Franco LJ, Dib SA. GAD autoantibodies, beta-cell function, and function, and insulin resistance in Japanese-Brazilian adults. Centro de Estudos da Comunidade nipo-brasileira de Bauru. *Diabetes Care* 2000; 23:1437-9.
 37. Gomes MB, Vieira LMM, Marques EP, Sarno EN, Chacra AR. Prevalence of autoantibodies in simplex and multiplex families of Brazilian insulin-dependent diabetic patients. *Braz J Med Biol Res* 1991; 24:375-81.
 38. Kasse CA, Miranda WL, Calliari LEP, Sá JR, Dib SA. Autoanticorpos anti-ilhota e anti-insulina em diabéticos do Tipo I de diagnóstico recente e parentes de primeiro grau brasileiros. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1998; 42:45-52.
 39. Dib SA, Mechica JB, Russo EMK, Chacra AR, Cudworth AG. Anticorpos circulantes contra ilhotas pancreáticas, mucosa gástrica, tireóide, córtex adrenal em pacientes diabéticos brasileiros (resumo). *Arq Bras Endocrinol Metab* 1983; 27:20.
 40. Pinheiro MFMC, Dib SA, Sá JR, Castro MAS, Vieira JGH, Russo EMK. Insulin autoantibodies in first degree relatives of type I diabetic patients. *Braz J Med Biol Res* 1992; 25:231-8.
 41. Oliveira KS, Pinheiro MFMC, Miranda WL, Dib SA, Russo EMK. Associação entre autoanticorpos anti-pró-insulina e anti-insulina com diabetes mellitus do tipo I. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1993; 37:120-4.
 42. Pardini VC, Mourão DM, Nascimento PD, Vivolo MA, Ferreira SRG, Pardini H. Frequency of islet cell autoantibodies (IA2 and GAD) in young Brazilian type I diabetes patients. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32:1195-8.
 43. Alves LI, Silva MRE, Correia MRS, Fukui RT, Wajchenberg BL, Santos RF, et al. Prevalência de autoanticorpos ICA, IAA, anti-GAD65 e IA2 em familiares de diabéticos do tipo I. In: Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia. Rio de Janeiro; 2000. p. S243. [Resumo].
 44. Bingley PJ, Bonifácio, E.; Ziegler AG, Atkinson MA, Eisenbarth GS, on behalf of The Immunology Diabetes Society. Proposed guidelines on screening for risk of Type I diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24:398.
 45. Atkinson MA, McLaren NK, Riley WJ, Winter WE, Fisk DD, Spillar RP. Are insulin autoantibodies markers for insulin-dependent diabetes mellitus? *Diabetes* 1986; 35:894-8.

Artigo recebido: 07/10/2002

Aceito para publicação: 04/08/2003
