

# Auto-anticorpos no episódio inaugural de diabetes mellitus tipo 1 em crianças

## *Autoantibodies in children with newly diagnosed type 1 Diabetes*

Raquel Soares, Alexandra Vieira, Rita Cardoso, Isabel Dinis, Alice Mirante  
*Hospital Pediátrico de Coimbra, Coimbra*

**Correspondência:** Alice Mirante › Unidade de Endocrinologia Pediátrica Diabetes e Crescimento. Hospital Pediátrico de Coimbra › Av. Bissaya Barreto 3000 COIMBRA › [alice.mirante@gmail.com](mailto:alice.mirante@gmail.com)

**Aceitação:** Artigo recebido em 19/05/2010, revisto em 14/06/2010 e aceite para publicação em 30/06/2010.

### RESUMO

A presença de auto-anticorpos na diabetes mellitus tipo 1 (DM1), dependendo do tipo e número, parece ter uma correlação com as características clínicas e metabólicas no momento do diagnóstico bem como um valor prognóstico no decurso da doença.

Os objectivos deste trabalho foram avaliar a frequência dos anticorpos anti descarboxilase do ácido glutâmico (GADA), anticorpos anti-células dos ilhéus (ICA) e anticorpos anti insulina (IAA), em crianças e jovens com DM1 à data do diagnóstico. Foram comparadas as características clínicas e bioquímicas da DM1 no episódio inaugural, nas crianças com os diferentes anticorpos e avaliado o impacto da positividade dos anticorpos no valor da hemoglobina glicada (HbA1C) e necessidades de insulina aos 3 meses de doença.

Foi efectuado um estudo retrospectivo dos anticorpos no episódio inaugural, de todas as crianças com DM1 internadas no Hospital Pediátrico de Coimbra, entre 2004 e 2009. Foram avaliadas, no episódio inaugural, as variáveis idade, sexo, GADA, ICA, IAA, HbA1c, pH, grau de descompensação e glicémia inicial. Aos 3 meses de doença foram avaliadas a dose diária de insulina e a HbA1c. Efectuada análise estatística dos dados utilizando SPSS 17.0.

No total, foram avaliadas 68 crianças, sendo 52,9% do sexo feminino. À data do diagnóstico 73,5% das crianças eram positivas para GADA, 69,1% para ICA e 41,2% para IAA. Apresentavam positividade para os 3 tipos de anticorpos 27,9% e para 2 tipos 32,4%, sendo a associação mais frequente GADA e ICA. Eram negativas, para todos os anticorpos testados, 3 crianças (4,4%). As crianças com GADA positivos tinham idade significativamente superior com predomínio do sexo feminino. As crianças com IAA positivos, tinham idade significativamente inferior ao grupo com IAA negativo. Em nenhum dos anticorpos específicos se registou diferenças no que diz respeito às características clínicas ou bioquímicas do episódio inaugural. Nas crianças com ICA positivo verificou-se menor valor de HbA1C, e nas crianças com IAA positivo menor dose total diária de insulina, na avaliação efectuada aos 3 meses de doença.

### PALAVRAS-CHAVE

Diabetes Diabetes Mellitus tipo I; Auto-anticorpos.

### ABREVIATURAS

DM1: Diabetes mellitus tipo 1

HbA1C: hemoglobina glicada

GADA: anticorpos anti descarboxilase do ácido glutâmico

IAA: anticorpos anti insulina

ICA: anticorpos anti células dos ilhéus

## ABSTRACT

*The presence of antibodies in Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1), depending on type and number, seems to have correlation with the clinical and metabolic characteristics at the time of diagnose as well as prognostic value in the course of the disease.*

*The objectives of this study were to evaluate the frequency of antibodies to glutamic acid decarboxylase (GADA), islet cell (ICA) and insulin (IAA) in children with newly diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus (DM1). A comparison of clinical and biochemical characteristics of DM1 in the inaugural episode was made in children with the different antibodies. The influence of antibody positivity in the value of glycated hemoglobin (GHb) at diagnosis and insulin requirements over the first three months of illness/the disease was evaluated.*

*A retrospective study of the antibodies in clinical presentation of all the children with DM1 admitted to Hospital Pediátrico de Coimbra between 2004 and 2009, was performed. The variables age, sex, GADA, ICA, IAA, GHb, pH, degree of descompensation and initial glycemia were evaluated at clinical presentation. The daily insulin dose and the glycated hemoglobin were evaluated at 3 months of disease. Statistical analysis of the data was made using SPSS 17.0.*

*Sixty eight children were evaluated, 52.9% of whom female. At diagnosis 73.5% of the children tested positive for GADA, 69.1% to ICA and 41.2% to IAA. 27,9 % was positive for three types of antibodies and 32.4% for two types, being GADA and ICA the most frequent association. Three children (4.4%) were negative for all tested antibodies. Children with positive GADA had significantly older age and were predominantly female. Children with positive IAA were significantly younger than the IAA negative group. No differences regarding the clinical and biochemical characteristics of the inaugural episode were found, for all different antibodies.*

*At 3 months of disease, children positive for ICA had lower value of glycated hemoglobin, and the children initially positive for IAA had lower daily insulin dose.*

## KEYWORDS

*Type 1 Diabetes Mellitus; autoantibodies.*

## ABBREVIATIONS

*DM1: Type 1 Diabetes*

*GHb: glycated hemoglobin*

*GAD: glutamic acid decarboxylase*

*IAA: insulin autoantibodies*

*ICA: islet cell antibodies*

## INTRODUÇÃO

Na DM1, a presença de auto-anticorpos contra um ou mais auto-antígenos reafirma o processo auto-imune na destruição das células  $\beta$ . O aparecimento dos diferentes anticorpos não segue um padrão rígido, embora o mais frequente seja surgirem primeiro os IAA, com desenvolvimento concomitante ou subsequente dos anticorpos GADA<sup>3</sup>. Pode ainda existir DM1 na ausência de anticorpos. A pre-

sença de múltiplos anticorpos tem grande valor preditivo positivo no desenvolvimento de DM1, como mostram diversos estudos realizados em grupos de risco, nomeadamente familiares de primeiro grau<sup>2,3</sup>. Outros estudos sugerem também que a intensidade da resposta humoral (título e número de anticorpos presentes) possa reflectir o estágio da destruição das células  $\beta$ <sup>4,5</sup>.

Existem poucos estudos publicados que relacionem a presença de anticorpos com as

características clínicas e metabólicas do episódio inaugural, bem como com a história natural da doença após o diagnóstico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Estudo retrospectivo das crianças com episódio inaugural de DM1 internadas no Hospital Pediátrico de Coimbra de 2004 a 2009. Foi avaliada a presença de anticorpos anti-insulina (IAA), anticorpos anti descarboxilase do ácido glutâmico (GADA) e anticorpos anti-células dos ilhéus (ICA), na apresentação da doença. Procurou-se também perceber a sua relação com as características clínicas e metabólicas no episódio inaugural, e com o valor de HbA1C e necessidades de insulina aos 3 meses de doença.

Definiu-se cetoacidose diabética como pH inferior a 7,3 e/ou bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) inferior a 15 mmol/L.

A análise estatística foi efectuada usando o SPSS Statistics 17.0 e os testes qui-quadrado, t-Student e ANOVA. Foi considerado um nível de significância se inferior a 5%.

## RESULTADOS

Nos 6 anos do período de estudo foi efectuado o diagnóstico de DM1 a 68 crianças com idade inferior a 14 anos, com uma média de 11 casos por ano. A idade média de apresentação da doença foi de  $7,9 \pm 3,2$  anos e 36 crianças (52,9%) eram do sexo feminino.

O pH médio foi de  $7,31 \pm 0,14$  e em 20 casos (29,4%) a apresentação foi com cetoacidose. O valor médio da glicemia na apresentação foi de  $493 \pm 165$  mg/dL e da HbA1C foi de  $10,9 \pm 2,5$ %.

Na avaliação aos 3 meses de doença, a média da HbA1C foi de  $7,0 \pm 1,1$ % e a média da dose diária total de insulina foi de  $0,57 \pm 0,2$  U/kg/dia.

Na avaliação inicial, 50 crianças (73,5%) apresentavam GADA positivos, 47 crianças (69,1%) ICA e 28 crianças (41,2%) IAA. Cerca de um quarto das crianças (27,9%) eram positivas para os 3 tipos de anticorpos, 32,4% para 2 tipos e 35,3% para apenas um tipo.

As diferentes combinações de anticorpos encontradas podem ser observadas no Quadro 1. Verificou-se que os anticorpos presentes isoladamente de forma mais frequente são os GADA, em 22,1% dos casos, e a associação mais frequente foi GADA e ICA, em 22,1%. Não apresentavam nenhum dos anticorpos testados, 3 crianças (4,4%).

QUADRO 1: Frequência das combinações de anticorpos presentes no episódio inaugural de DM 1 em 68 crianças.

Anticorpos	N.º de crianças	Frequência (%)
Ausência de anticorpos	3	4,4
1 anticorpo positivo	24	35,3
GADA +	15	22,1
IAA +	2	2,9
ICA +	7	10,3
2 anticorpos positivos	22	32,4
GADA + e IAA +	1	1,5
GADA + e ICA +	15	22,1
IAA + e ICA +	6	8,8
3 anticorpos positivos		
GADA +, IAA + e ICA +	19	27,9

QUADRO 2: Comparação das crianças com GADA positivo e GADA negativo: características clínicas e bioquímicas da DM1 no episódio inaugural, valor de HbA1C e dose de insulina 3 meses após o diagnóstico.

	GADA positivo (n=50)	GADA negativo (n=18)	Valor de p
Idade (anos)	$8,4 \pm 2,8$	$6,6 \pm 3,9$	0,04
Sexo masculino	18 (36%)	14 (77,8%)	0,003
Cetoacidose	15 (30%)	5 (27,8%)	ns
pH	$7,33 \pm 0,14$	$7,29 \pm 0,15$	ns
Osmolaridade	$303 \pm 9,1$	$305 \pm 12$	ns
Glicemia Inicial (mg/dL)	$472 \pm 156$	$548 \pm 181$	ns
HbA1C Inicial (%)	$10,8 \pm 2,6$	$11,3 \pm 2,5$	ns
HbA1C aos 3 meses (%)	$7,0 \pm 1,1$	$7,0 \pm 1,2$	ns
Dose de Insulina aos 3 meses (U/Kg/dia)	$0,58 \pm 0,21$	$0,53 \pm 0,2$	ns

QUADRO 3: Comparação das crianças com ICA positivo e ICA negativo: características clínicas e bioquímicas da DM1 no episódio inaugural, valor de HbA1C e dose de insulina 3 meses após o diagnóstico.

	ICA positivo (n=47)	ICA negativo (n=21)	Valor de p
Idade (anos)	8 ± 3,1	7,6 ± 3,5	ns
Sexo masculino	20 (42,6%)	12 (57,1%)	ns
Cetoacidose	11 (23,4%)	9 (42,9%)	ns
pH	7,33 ± 0,14	7,28 ± 0,14	ns
Osmolaridade	302 ± 6,5	305 ± 6,5	ns
Glicemia Inicial (mg/dL)	478 ± 159	523 ± 178	ns
HbA1C Inicial (%)	10,6 ± 2,6	11,6 ± 2,3	ns
Hb A1C aos 3 meses	6,8 ± 1,0	7,4 ± 1,4	0,04
Dose de Insulina aos 3 meses (U/Kg/dia)	0,53 ± 0,17	0,63 ± 0,26	ns

QUADRO 4: Comparação das crianças com IAA positivo e IAA negativo: características clínicas e bioquímicas da DM1 no episódio inaugural, valor de HbA1C e dose de insulina 3 meses após o diagnóstico.

	AAI positivo (n=28)	AAI negativo (n=40)	Valor de p
Idade (anos)	6,8 ± 3	8,7 ± 3,2	0,017
Sexo masculino	12 (42,9%)	20 (50%)	ns
Cetoacidose	6 (21,4%)	14 (35%)	ns
pH	7,33 ± 0,13	7,31 ± 0,15	ns
Osmolaridade	302 ± 7,3	304 ± 11,4	ns
Glicemia Inicial (mg/dL)	487 ± 163	497 ± 168	ns
HbA1C Inicial (%)	10,4 ± 2,2	11,3 ± 2,7	ns
Hb A1C aos 3 meses (%)	6,9 ± 0,9	7,1 ± 1,1	ns
Dose de Insulina aos 3 meses (U/Kg/dia)	0,5 ± 0,14	0,62 ± 0,23	0,016

Relativamente às crianças que apresentaram inicialmente GADA positivos (Quadro 2), verificou-se que tinham uma idade significativamente superior e a percentagem de rapazes era menor, enquanto as crianças com IAA positivo tinham uma idade significativamente inferior (Quadro 4). Não foram encontradas diferenças para sexo ou idade nas crianças com ICA positivo e negativo (Quadro 3). Não se registaram diferenças estatisticamente significativas no que diz respeito às características clínicas ou bioquímicas do episódio inaugural, para nenhum dos anticorpos. Na avaliação de controlo aos 3 meses, as únicas diferenças significativas encontradas foram nas crianças com ICA positivo que apresentavam menor valor de HbA1C, e nas com IAA positivo que necessitavam de menor dose total diária de insulina (Quadros 3 e 4).

Na avaliação relativa ao número de anticorpos encontrados, verificou-se apenas

diferenças relativamente à frequência de cetoacidose, presente em 100% dos casos de ausência de anticorpos, e na osmolaridade no episódio inaugural, superior também se ausência de anticorpos. Não foram encontradas diferenças relativamente à idade, sexo, valor de glicemia e HbA1C inicial, ou dose de insulina e HbA1C aos 3 meses.

## DISCUSSÃO

A prevalência dos diferentes tipos de anticorpos encontrados neste estudo é sobreponível à encontrada por Sabbah E. et al<sup>1</sup>: respectivamente para os GADA 73,5% e 73,2%, ICA 69,1% e 84,2% e IAA 41,2 e 54,2%, não tendo sido detectados anticorpos em 4,4% e 2,3%.

Os resultados encontrados mostraram que não existe relação entre a presença de cada um dos anticorpos estudados (GADA,

QUADRO 5: Características da DM1 no episódio inaugural, e valor de HbA1C e dose de insulina 3 meses após o diagnóstico, em crianças com ausência de anticorpos, 1-2 positivos ou os 3 positivos.

	Ausência de Ac (n=3)	1-2 Ac positivos (n=46)	3 Ac positivos (n=19)	Valor de p
Idade (anos)	7,5 ± 6,4	7,7 ± 3,3	7,4 ± 2,8	ns
Sexo masculino	3 (100%)	23 (50%)	6 (31,6%)	ns
Cetoacidose	3 (100%)	13 (28,3%)	4 (21,1%)	0,02
pH	7,16 ± 0,08	7,32 ± 0,14	7,34 ± 0,13	ns
Osmolaridade	318 ± 22	302 ± 9,5	303 ± 7	0,03
Glicemia Inicial (mg/dL)	534 ± 3,2	503 ± 160	460 ± 156	ns
HbA1C Inicial (%)	11,1 ± 2	11,2 ± 2,7	10,3 ± 2,3	ns
Hb A1C aos 3 meses (%)	8,2 ± 1,6	7 ± 1,1	6,9 ± 0,9	ns
Dose de Insulina aos 3 meses (U/Kg/dia)	0,60 ± 0,07	0,59 ± 0,24	0,50 ± 0,12	ns

ICA e IAA) e as características clínicas ou bioquímicas do episódio inaugural. Os GADA são mais frequentes na apresentação em crianças mais velhas e em menor percentagem nos rapazes, e os IAA surgem em crianças mais novas, factos igualmente observados num estudo Finlandês<sup>1</sup>. Relativamente à avaliação aos 3 meses de doença, verificou-se que ICA positivo estava associado a menor valor de HbA1C, e IAA positivo a menor dose diária total de insulina, não se encontrando na literatura referências semelhantes.

Algumas crianças (4,4%) apresentavam todos os anticorpos testados negativos. As possíveis razões apontadas no estudo Finlandês<sup>1</sup> para a ausência de anticorpos no episódio inaugural, num pequeno número de crianças foram: utilização de ensaios para determinação de anticorpos pouco sensíveis; ter ocorrido sero-conversão para estado negativo no período pré-clínico; ou existência de uma verdadeira forma de diabetes com anticorpos negativos em que a destruição das células  $\beta$  é mediada por mecanismos não imunes. O mesmo estudo mostrou que a idade das crianças com anticorpos negativos era significativamente superior à das crianças com presença de anticorpos, tendência não observada na nossa amostra. Os nossos resultados mostraram porém que neste grupo de doentes ocorreu cetoacidose com mais frequência e níveis mais elevados de osmolaridade que se correlacionam com a presença de cetoa-

cidose. O pequeno número de crianças do nosso estudo não permite, porém, formular hipóteses ou extrair conclusões.

São necessários mais estudos relativos à evolução natural da doença são necessários para tentar compreender se crianças com múltiplos anticorpos positivos apresentam uma evolução mais rápida da destruição das células  $\beta$ , do que aquelas com 1 ou 2 anticorpos, ou mesmo com ausência de anticorpos.

A relação entre anticorpos e características da doença são importantes na classificação, prevenção e adequação de estratégias terapêuticas, com vista a conseguir otimizar o controle metabólico destas crianças.

## BIBLIOGRAFIA

1. Sabbah E, Savola K, Kulmala P, Veijola R, Vähäsalo P, Karjalainen J, Akerblom HK, Knip M, and The Childhood Diabetes in Finland Study Group. Diabetes-Associated Autoantibodies in Relation to Clinical Characteristics and Natural Course in Children with Newly Diagnosed Type 1 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999. 84(5): 1534-1539.
2. Pihoker C, Gilliam LK, Hampe CS, Lernmark A. Autoantibodies in Diabetes. *Diabetes* 2005. 54 (Supp.2): S52-61.
3. Achenbach P, Bonifacio E, Koczwara K, Ziegler AG. Natural History of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2005. 54(Supp.2): S25-31.
4. Brooks-Worrell BM, Greenbaum CJ, Palmer JP, Pihoker C. Autoimmunity to Islet Proteins in Children Diagnosed with New-Onset Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004. 89(5):2222-2227.
5. Montserrat P, Ramon G, Guadalupe E, Roser C, Gianfranco B. Correlation between residual  $\beta$ -cell function and islet cell antibodies in newly diagnosed type 1 Diabetes. *Diabetes* 1989.38:1396-1401.