

Prevalence of Autoantibodies Against Pancreatic Beta Cells in Children with Type 1 Diabetes Mellitus

Zahra Panahivand¹
Maryam Nikpour²
Moloud Ajdari³
Omid Babania⁴
Morteza Alijanpour⁵

¹ BSc in Nursing, Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

² Assistant Professor, Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

³ BSc in Nursing, The Clinical Research Development Unit of Amirkola Children's Hospital, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁴ MSc in Immunology, The Clinical Research Development Unit of Amirkola Children's Hospital, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁵ Associate Professor, Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

(Received October 15, 2023; Accepted December 30, 2023)

Abstract

Background and purpose: Zinc transporter autoantibody 8 (ZnT8A) was recently identified as a novel antibody antigen in type 1 diabetes mellitus, and its positivity is associated with early onset of the disease. So the present study was conducted to determine the prevalence of autoantibodies related to type 1 diabetes mellitus, especially ZnT8A as a newer antibody in children from 1 to 18 years of age referred to Amirkola Children's Hospital.

Materials and methods: In this descriptive and analytical study, 80 children under 18 years of age with type 1 diabetes referred to Amirkola Children's Hospital, Babol, Iran during the years 2013 to 2021 were included in the study. Pediatric diabetes was diagnosed based on the criteria of the American Diabetes Association and with a visit to a pediatric endocrinologist. Antibodies related to type 1 diabetes including 65 glutamic decarboxylase (anti-GAD), protein tyrosine phosphatase (IA-2A), anti-islet cell autoantibodies (ICA), insulin autoantibodies (IAA), and zinc transporter 8 (ZnT8A) was measured from their blood samples at the time of disease diagnosis by ELISA method. Data were analyzed using t-test, chi-square, and Fisher's exact test. The significance level in this study was considered as $p < 0.05$.

Results: Samples were 80 children with an average age of 7.9 ± 3.6 years (57% girls and 43% boys). The level of GADA in the studied samples was 65.2%, IA-2A 58.8%, ZnT8A 56.3%, ICA 47.5%, and IAA 6.3%.

Conclusion: 93.8% of diabetic patients were autoantibody positive, which shows that by measuring the level of pancreatic antibodies, type 1 diabetes is confirmed in more than 90% of patients. Also, by measuring newer antibodies such as ZnT8A, the percentage of idiopathic type 1 diabetes cases also decreases.

Keywords: Islet cell autoantibodies, type 1 diabetes mellitus, children

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 33 (228): 155-160 (Persian).

Corresponding Author: Morteza Alijanpour - Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. (E-mail: m.alijanpour@yahoo.com)

فراوانی اتوآنتی بادی های ضد سلول های بتای پانکراس در کودکان مبتلا به دیابت قندی نوع یک

زهرا پناهی وند^۱

مریم نیک پور^۲

مولود اژدری^۳

امید بابانیا^۴

مرتضی علیجانپور^۵

چکیده

سابقه و هدف: اتوآنتی بادی انتقال دهنده روی ۸ (ZnT8A) اخیراً به عنوان یک آنتی بادی جدید در دیابت قندی نوع یک شناسایی شد و مثبت بودن آن با شروع زودرس این بیماری مرتبط است. لذا این مطالعه با هدف تعیین فراوانی اتوآنتی بادی های مربوط به دیابت قندی نوع یک خصوصاً ZnT8A به عنوان یک آنتی بادی جدیدتر در کودکان ۱ تا ۱۸ سال مراجعه کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا انجام گرفت.

مواد و روش ها: در این پژوهش توصیفی تحلیلی، ۸۰ کودک زیر ۱۸ سال مبتلا به دیابت قندی نوع یک مراجعه کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا، بابل، ایران در طی سال های ۱۳۹۲ تا ۱۴۰۰، وارد مطالعه شدند. دیابت کودکان براساس معیارهای انجمن دیابت آمریکا و با ویزیت فوق تخصص غدد کودکان تشخیص داده شد. آنتی بادی های مربوط به دیابت قندی نوع یک شامل ۶۵ گلو تامیک دکربو کسپلاز (anti-GAD)، پروتئین تیروزین فسفاتاز (IA-2A)، اتوآنتی بادی ضد سلول های جزیره (ICA)، اتوآنتی بادی انسولین (IAA) و انتقال دهنده روی ۸ (ZnT8A) در زمان تشخیص بیماری، از نمونه خون و به روش الیزا سنجش شد. داده ها با استفاده از آزمون های تی تست و کای اسکور و تست دقیق فیشر آنالیز شدند. سطح معنی داری در این مطالعه $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: در این مطالعه ۸۰ کودک با میانگین سنی $7/9 \pm 3/6$ سال (۵۷ درصد دختر و ۴۳ درصد پسر) مورد بررسی قرار گرفتند. سطح GADA در نمونه های مورد مطالعه ۶۵/۲ درصد، IA-2A ۵۸/۸ درصد، ZnT8A ۵۶/۳ درصد و ICA ۴۷/۵ درصد و IAA ۶/۳ درصد بود.

استنتاج: در مطالعه حاضر، ۹۳/۸ درصد بیماران دیابتی، اتوآنتی بادی مثبت بودند که نشان می دهد با اندازه گیری سطح آنتی بادی های پانکراس، دیابت نوع یک در بیش از ۹۰ درصد بیماران تایید می شود. همچنین با اندازه گیری ZnT8A، درصد موارد دیابت نوع یک ایدیوپاتیک نیز کاهش می یابد.

واژه های کلیدی: اتوآنتی بادی های ضد سلول های جزیره، دیابت ملیتوس نوع ۱، کودکان

مؤلف مسئول: مرتضی علیجانپور - بابل: دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت E-mil: m.alijanpour@yahoo.com

۱. کارشناس پرستاری، مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳. کارشناس پرستاری، واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان کودکان امیرکلا، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۴. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان کودکان امیرکلا، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۵. دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

✉ تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۳۰ تاریخ تصویب: ۱۴۰۲/۱۰/۹

مقدمه

پرونده، وجود نقص سیستم ایمنی، سندرم مرتبط با دیابت (ترنر، داون...)، دیابت نوع دو و تالاسمی بود. تشخیص دیابت قندی نوع یک بر اساس معیارهای انجمن دیابت آمریکا (۹) و با ویزیت فوق تخصص غدد کودکان داده شد. در کودکان مورد مطالعه، بلافاصله بعد از تشخیص اولیه، سطح اتوآنتی‌بادی‌ها اندازه‌گیری شد. برای سنجش آنتی‌بادی‌های IAA، IA2A، GADA، IAA، ICA، ZnT8A، IAA میزان ۱ سی‌سی از نمونه سرم کودکان مورد مطالعه گرفته شد و با استفاده از کیت آزمایشگاهی Medizym (ساخت کشور آلمان)، به روش الیزا بررسی شد. سطح نرمال اتوآنتی‌بادی‌های دیابت نوع یک بر اساس میزان رنج نرمال مندرج در کیت‌های مربوطه در نظر گرفته شدند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: میزان نرمال اتوآنتی‌بادی‌ها

میزان نرمال	نام اتوآنتی‌بادی
(Negative <5 , Positive >=5) U/ml	GADA65
(Negative <8 , Borderline 8-10 , Positive >10) IU/ml	IA2A
(Positive >=1.05 , Borderline 0.95-1.05 , Negative <0.95) Index	ICA
(Negative <15 , Positive >=15) U/ml	ZnT8A
(Positive >=10 , Negative <10) U/ml	IAA

هم‌چنین اطلاعات دموگرافیک شامل سن، جنس، وجود بیماری‌های اتوایمون (سلیاک و هاشیموتو) نیز بررسی شدند. بیماری سلیاک با آزمایش آنتی‌بادی TTG-IgA (۱۰) به روش الیزا با کیت استاندارد (Euroimmun، آلمان) تایید شد. بیماران با تست آنتی‌بادی TTG-IgA مثبت (< ۵۰ Ru/ml) برای بیوپسی آندوسکوپیک به پزشک فوق تخصص گوارش ارجاع شدند. تیروئیدیت هاشیموتو نیز با تعیین سطح TSH و T4 با روش آزمایشگاهی الیزا و کیت پیش‌تاز ساخت کشور ایران انجام شد. سطح نرمال آنتی‌تیروگلوبولین ۱۰۰-۵ IU/ml، سطح Anti-TPO کم‌تر از ۵۰ IU/ml و محدوده نرمال بین ۵۰ تا ۷۵ IU/ml در نظر گرفته می‌شود. سطح نرمال TSH ۵/۰ تا ۵/۵ میکروگرم بر دسی‌لیتر در نظر گرفته شد و محدوده نرمال T4 برای سنین ۳ تا ۱۰ سال ۵/۵ تا ۱۲/۸ میکروگرم بر دسی‌لیتر و

شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۱۹، ۹/۳ درصد برآورد شده است که ۱۰ تا ۱۵ درصد از آن‌ها مبتلا به دیابت قندی نوع یک هستند (۱). علت اصلی بروز این نوع از دیابت، تخریب اتوایمون سلول‌های بتای پانکراس است و بیش‌ترین شیوع را بین کودکان و نوجوانان دارد (۲).

اتوآنتی‌بادی‌های ضد سلول‌های بتای جزایر پانکراس پیش‌بینی‌کننده‌های قوی دیابت نوع یک هستند (۳، ۴)، که شامل گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز ۶۵ (GADA)، اتوآنتی‌بادی سلول جزیره (ICA)، اتوآنتی‌بادی‌های انسولین (IAA)، تیروزین فسفاتاز (IA-2A) و اتوآنتی‌بادی انتقال‌دهنده روی ۸ (ZnT8A) می‌باشد (۵). در برخی موارد تخریب سلول‌های بتا بدون واسطه ایمنی است که زیر شاخه نوع B یا ایدیوپاتیک است (۶). اتوآنتی‌بادی ZnT8 اخیراً به عنوان یک آنتی‌بادی جدید در دیابت قندی نوع یک شناسایی شد و مثبت بودن آن با شروع زودرس بیماری مرتبط است. وجود این آنتی‌بادی با قومیت همراه می‌باشد (۷). فراوانی اتوآنتی‌بادی‌ها در مطالعات سطح جهانی متفاوت گزارش شده است (۸) و پژوهش‌های انجام یافته در ایران خصوصاً در مورد اتوآنتی‌بادی ZnT8، محدود است. به‌علاوه با توجه به منفی بودن سطح آنتی‌بادی‌ها در درصدی از بیماران، مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی اتوآنتی‌بادی‌ها به خصوص شناسایی اتوآنتی‌بادی ZnT8 در دیابت نوع یک در کودکان مراجعه‌کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا در سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۴۰۰ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه به صورت توصیفی تحلیلی در کودکان با تشخیص دیابت مراجعه‌کننده به درمانگاه غدد بیمارستان کودکان امیرکلا طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۲ انجام شد. نمونه‌گیری به صورت سرشماری و با توجه به معیار ورود بود. معیار ورود شامل کودکان با سن بین ۱ تا ۱۸ سال و ابتلا به دیابت نوع یک و معیار خروج شامل عدم تکمیل

جدول شماره ۲: فراوانی با محدوده اطمینان ۹۵ درصد

درصد (فاصله اطمینان)	تعداد	نوع اتوآنتی بادی
۶۵ (۵۳-۷۵)	۵۲	GADA
۵۸/۸ (۴۷-۶۹)	۴۷	IA-2A
۵۶/۳ (۴۴-۶۷)	۴۵	ZnT8A
۴۷/۵ (۳۶-۵۸)	۳۸	ICA
۶/۳ (۰-۱)	۵	IAA

۶/۲ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه که دارای آنتی‌بادی منفی بودند در گروه B یا ایدیوپاتیک قرار گرفتند. بیش‌ترین فراوانی اتوآنتی‌بادی‌ها در کودکان مورد مطالعه به ترتیب GADA (۶۵ درصد)، IA-2A (۵۸/۸ درصد)، ZnT8 (۵۶/۳ درصد)، ICA (۴۷/۵ درصد) و IAA (۶/۳ درصد) بود.

در مطالعه Basu و همکاران بیش‌ترین فراوانی مربوط به اتوآنتی‌بادی GADA (۷۹/۳ درصد) بود (۱۲) که با مطالعه ما هم راستا بود. در مطالعه زمان فر و همکاران و savola و همکاران فراوانی GADA، به ترتیب ۵۶/۳ درصد و ۶۲ درصد بود (۱۴، ۱۳)، در مطالعه آن‌ها هرچند GADA بیش‌ترین فراوانی را در میان اتوآنتی‌بادی‌ها نداشت، اما از نظر میزان، هم راستا با مطالعه حاضر بود. کم‌ترین فراوانی اتوآنتی‌بادی در مطالعه ما IAA (۶/۳ درصد) بود. در مطالعه Basu و همکاران (۲۰۲۰) میزان IAA ۶۳ درصد (۱۲) و در مطالعه زمان فر و همکاران در حدود ۲۰ درصد بودند (۱۳). هم‌چنین فراوانی اتوآنتی‌بادی ZnT8 به‌عنوان یک آنتی‌بادی جدیدتر، در مطالعه حاضر ۵۸/۸ درصد است اما در مطالعه Petruzelkova و همکاران ۷۲ درصد و در مطالعه Basu و همکاران (۲۰۲۰) ۲۰ درصد بوده است (۱۲، ۸)، که در راستای مطالعه حاضر نبود. این تفاوت‌ها در مطالعات مختلف را شاید بتوان به سکونت در مناطق جغرافیایی مختلف و هم‌چنین تفاوت‌های ژنتیکی افراد نسبت داد.

نتایج نشان داد که به ترتیب ۹۳/۸ درصد، ۷۱/۳ درصد، ۴۷/۵ درصد، ۱۷/۵ درصد و ۳/۶ درصد از نمونه‌های مطالعه، دارای حداقل یک، دو، سه، چهار و پنج آنتی‌بادی بودند. در مطالعه Petruzelkova و همکاران ۶۲ درصد بیماران دارای سه آنتی‌بادی بودند (۸).

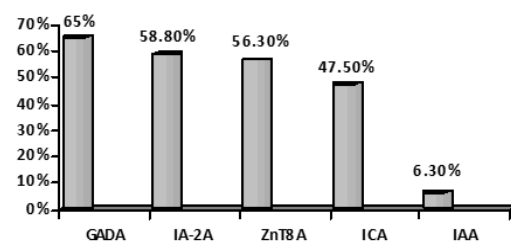
برای سنین بالای ۱۰ سال ۴/۲ تا ۱۳ میکروگرم بر دسی لیتر در نظر گرفته می‌شود (۱۱، ۶).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 22.0), Chicago, IL, USA تجزیه و تحلیل شد. برای تحلیل داده‌های کمی از آزمون تی و ANOVA و برای تحلیل داده‌های کیفی از آزمون‌های کای اسکور و تست دقیق فیشر استفاده شد. سطح معنی‌داری در این مطالعه $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

در این مطالعه، ۸۰ کودک با میانگین سنی 7.9 ± 3.6 سال (۵۷ درصد دختر و ۴۳ درصد پسر) مورد بررسی قرار گرفتند. ۹ نفر (۱۱/۳ درصد) بیماری همزمان داشتند که شامل تیروئیدیت هاشیموتو ۸/۷۵ درصد (۷ نفر) و سلیاک ۲/۵ درصد (۲ نفر) بود.

مطالعه نشان داد که ۵۲ کودک (۶۵ درصد) دارای سطح GADA مثبت، ۴۷ کودک (۵۸/۸ درصد)، IA-2A مثبت، ۴۵ کودک (۵۶/۳ درصد) ZnT8 مثبت، ۳۸ کودک (۴۷/۵ درصد) ICA مثبت و ۵ کودک (۶/۳ درصد) نیز IAA مثبت داشتند (نمودار شماره ۱). هم‌چنین فراوانی اتوآنتی‌بادی‌ها در جنس مذکر و مونث و سن در زمان تشخیص بیماری ارتباط معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). یافته‌ها نشان داد که ۷۵ نفر (۹۳/۸ درصد) دارای حداقل یک آنتی‌بادی مثبت، ۵۷ نفر (۷۱/۳ درصد) حداقل دو، ۳۸ نفر (۴۷/۵ درصد) سه، ۱۴ نفر (۱۷/۵ درصد) چهار و ۳ نفر (۳/۶ درصد) پنج آنتی‌بادی مثبت داشتند.



نمودار شماره ۱: فراوانی اتوآنتی‌بادی‌های مرتبط با دیابت ملیتوس نوع ۱ در زمان تشخیص بیماری

سنی بیماران مبتلا به دیابت بالاتر باشد، احتمال مثبت شدن حداقل یک آنتی‌بادی در بیماران بیش تر است. مطالعه حاضر بیان کرد که ۹۳/۸ درصد بیماران دیابتی، اتوآنتی‌بادی مثبت بودند که نشان می‌دهد با اندازه‌گیری سطح آنتی‌بادی‌های ضد سلول‌های بتای پانکراس، دیابت نوع یک در بیش از ۹۰ درصد بیماران تایید می‌شود. هم‌چنین با اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های جدید تر از جمله ZnT8A، درصد موارد دیابت نوع یک ایدیوپاتیک نیز کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

این طرح در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل با کد IR.MUBABOL.REC.1401.051 تایید شده است. نویسندگان بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل و واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان کودکان شفیع زاده امیرکلا قدردانی می‌نمایند.

References

- Cai X, Li J, Cai W, Chen C, Ma J, Xie Z, et al. Meta-analysis of type 1 diabetes mellitus and risk of cardiovascular disease. *J Diabetes Complications* 2021; 35(4): 107833.
- Katsarou A, Gudbjörnsdottir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, et al. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3(1): 17016.
- So M, Speake C, Steck AK, Lundgren M, Colman PG, Palmer JP, et al. Advances in Type 1 Diabetes Prediction using Islet Autoantibodies: Beyond a Simple Count. *Endocr Rev* 2021; 42(5): 584-604.
- Ilonen J, Knip M, Vaarala O. Heterogeneity in diabetes-associated autoantibodies and susceptibility to Type 1 diabetes: lessons for disease prevention. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2015; 10(1): 25-34.
- Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM: *Williams textbook of endocrinology E-Book*. Amsterdam: Elsevier Health Sciences; 2015.
- Kliegman R, Geme J St. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 21st ed: Elsevier Health Sciences; 2019.
- Rochmah N, Faizi M, Windarti SW. Zinc transporter 8 autoantibody in the diagnosis of type 1 diabetes in children. *Clin Exp Pediatr* 2020; 63(10):402-405.
- Petruzelkova L, Ananieva- Jordanova R, Vcelakova J, Vesely Z, Stechova K, Lebl J, Dusatkova P, Sumnik Z, Coles R, Powell M. The dynamic changes of zinc transporter 8 autoantibodies in Czech children from the

- onset of Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2014; 31(2): 165-171.
9. Jacobsen LM, Bocchino L, Evans-Molina C, DiMeglio L, Goland R, Wilson DM, et al. The risk of progression to type 1 diabetes is highly variable in individuals with multiple autoantibodies following screening. *Diabetologia* 2020; 63(3): 588-596.
 10. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128(4): S38-S46.
 11. Alijanpour Aghamaleki M, Esmaeili Dooki MR, Moslemi L, Rezapour M, Chypaz R, Aghajanpour F. Autoimmune thyroid disease in northern Iranian children with type 1 diabetes mellitus in Amirkola Endocrine Clinic. *Caspian Journal of Pediatrics* 2017; 3(1): 205-208.
 12. Basu M, Pandit K, Banerjee M, Mondal SA, Mukhopadhyay P, Ghosh S. Profile of auto-antibodies (Disease related and other) in children with type 1 diabetes. *Indian J Endocrinol Metab* 2020; 24(3): 256-259.
 13. Zamanfar D, Aarabi M, Amini M, Monajati M. Prevalence of autoantibodies in type 1 diabetes mellitus pediatrics in Mazandaran, North of Iran. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2020; 33(10): 1299-1305.
 14. Savola K, Sabbah E, Kulmala P, Vähäsalo P, Ilonen J, Knip M. Autoantibodies associated with Type I diabetes mellitus persist after diagnosis in children. *Diabetologia* 1998; 41(11): 1293-1297.