مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات‌بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
سال اول، شماره ۴، صفحات ۲۵۸-۲۶۲ (زمستان ۱۳۷۸)

اتوآنتی‌بادی GAD65 در بیماران دیابت ملیتوس وابسته به انسولین و وابستگان درجه اول آنها

دکتر مهیندخت کیهانی و دکتر منوچهر نخجوانی
بخش غدد درون‌ریز، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

اساس پدیده خودایمنی در پاتوژنز دیابت ملیتوس وابسته به انسولین (IDDM) با حضور آنتی‌بادی‌هایی مانند آنتی‌بادی‌های ضدگلوتامیک اسید دی‌کربوکسیلاز مورد تایید قرار می‌گیرد. اکنون تمایل عمده‌ای برای استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد GAD (Anti-GAD) جهت شناسایی افرادی که در معرض خطر IDDM هستند آغاز شده است. ما میزان فراوانی anti-GAD را در یک گروه ۳۰ نفری با دیابت نوع I (با مدت میانگین ابتلاء ۴/۴ سال) با روش رادیوایمونواسی (RAI) بررسی و با فراوانی‌های این آنتی‌بادی در دو گروه افراد سالم (۸۰ نفر) و بستگان درجه اول (۵۰ نفر) این بیماران مقایسه نمودیم. فراوانی anti-GAD مثبت در بیماران دیابتی، بستگان درجه اول آنان و افراد سالم به ترتیب ۶۳/۳ درصد (۱۹ نفر)، ۸ درصد (۴ نفر) و صفر درصد بود. بنابراین می‌توان از anti-GAD بعنوان یک آزمایش پیش بالینی برای پیش‌بینی بروز IDDM در افراد پرخطر ایرانی نیز استفاده نمود.

واژگان کلیدی: دیابت وابسته به انسولین، اتوآنتی‌بادی‌ها، آنتی‌بادی‌های ضد GAD، گلوتامیک اسید دی‌کربوکسیلاز

سالیانه بودجه زیادی در سراسر جهان همراه با مراقبت‌های بهداشتی بابت بیماری دیابت هزینه می‌گردد، بنابراین تشخیص اولیه و زودرس با یک هدف یعنی یافتن معالجه‌ای موثر برای این بیماری تهدید کننده زندگی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. البته برای پیدا شدن معالجه موثر، نیاز به مارکرها و علامت دهندگان کاملاً درست و اختصاصی دارد. تحقیقات انجام شده توسط محققین نشان داد که اندازه‌گیری یکی از این علامت دهندگان- بنام اتوآنتی‌بادی دکربوکسیلاز (GAD65-Ab)- می‌تواند جهت بررسی وضعیت سلولهای بتای پانکراس، ارزش بالینی زیادی برای متخصصین بالینی داشته باشد، چرا که آغاز علائم بالینی دیابت نوع I زمانی است که ۹۰-۸۰ درصد سلولهای بتا از بین رفته باشند. در این مرحله طولانی یعنی ۱۰ سال قبل از استقرار دیابت، این اتوآنتی‌بادی (GAD65-Ab) قابل اندازه‌گیری است و فرصتی را برای پیش‌گویی و پیشگیری از آغاز علائم بالینی بیماری را فراهم می‌کند (۱ و ۲).

در پی پیدایش این اتوآنتی‌بادی، تحمل فرد به گلوکز مختل شده و در نهایت بطور ناگهانی دیابت نوع I آغاز می‌گردد و بفاصله کمی پس از آغاز بیماری در سرم خون ۹۰ درصد از بیماران این اتوآنتی‌بادی ظاهر می‌شود ولی پس از گذشت ۲۰ سال از شروع بیماری این میزان به ۱۰-۵ درصد میرسد. GAD65 یک ملکول پروتئینی ۶۴ کیلو دالتونی است که در سلولهای بتای جزایر لانگرهانس وجود دارد، این پروتیین، آنزیمی است از گروه دکربوکسیلاز که قادر به برداشتن عامل کربوکسیل از روی گلوتامیک اسید است که آنرا به GABA تبدیل می‌کند. در اثر تخریب سلولهای بتا بمرور زمان این پروتئین آزاد شده و اتوآنتی‌بادی ضد آن در سرم بیمار بوجود می‌آید. GAD65-Ab در سرم خون حدود ۹۰-۸۵ درصد افرادی که بتازگی در آنها دیابت تشخیص داده شده و نیز در بیش از ۸۰ درصد افراد پره‌دیابتی از بستگان درجه اول بیماران دیده شده است (۳ و ۴). جالب توجه این است که در هیچ از سایر بیماریهای اتوایمیون و یا افراد سالم، این اتوآنتی‌بادی بطور ثابت وجود ندارد و یا گاهی اوقات در بعضی از گزارشات حداکثر تا ۲ درصد وجود این اتوآنتی‌بادی اعلام شده است (۵).

بنابراین، بعنوان یک تست پیش‌گویی کننده و غربالگر، برای تعیین خطر آشکار شدن IDDM (دیابت ملتیوس وابسته به انسولین) در افراد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. حساسیت این تست در حدود ۸۲/۱ درصد، ویژگی آن در بیشتر گزارشات ۱۰۰ درصد اعلام شده است (۶). جهت روشن نمودن نقش مشارکتی پدیده خودایمنی در پاتوژنز IDDM در ایران، فراوانی anti-GAD در یک گروه از بیماران دیابتی مورد بررسی و با میزان فراوانی این آنتی‌بادی در دو گروه افراد سالم و افراد بستگان درجه اول بیماران مقایسه شد.

روش‌های بررسی

۱- جامعه پژوهش

جامعه پژوهش ما جهت بررسی میزان اتوآنتی‌بادی ضدگلوتامیک اسید دکربوکسیلاز (Anti-GAD)، بیماران دیابتی نوع I و وابستگان درجه اول آنها بوده که در بیمارستانهای مختلف وابسته به دانشگاههای علوم پزشکی (ایران و تهران) تحت تشخیص، درمان و پیگیری قرار گرفته بودند.

۲- نحوه انتخاب نمونه و تعداد آنها و طرز نمونه‌گیری

الف- نحوه انتخاب نمونه:

در این پژوهش یک گروه از بیماران با تشخیص دیابت نوع I توسط معاینه بالینی و انجام آزمایشات لازم زیرنظر پزشک متخصص بعنوان کنترل مثبت برای Anti-GAD و یک گروه از افراد سالم که هیچگونه سابقه بیماری خاصی در آنها و یا در والدین و یا جد آنها وجود نداشت بعنوان کنترل منفی برای Anti GAD و یک گروه از وابستگان درجه اول بیماران مبتلا

به دیابت نوع I بعنوان نمونه پژوهش انتخاب شدند.

ب- تعداد نمونه‌ها و طرز نمونه‌گیری:

تعداد ۳۰ بیمار دیابتی نوع I بعنوان کنترل مثبت برای Anti-GAD و ۵۰ نفر از وابستگان درجه اول بیماران بعنوان گروه پژوهش و ۸۰ نفر از افراد سالم بعنوان کنترل منفی برای Anti-GAD انتخاب شدند. از تمام گروهها صبح ناشتا خون گیری بعمل آمد و سرم جدا شده از خون، در لوله های همولیز ریخته و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شد.
برای اطمینان، آزمایش قند خون برای تمام گروهها انجام شد تا در گروه منفی و در گروه پژوهش، افراد مبتلا به دیابت وجود نداشته باشند.

۳- روش اندازه گیری Anti-GAD

در این بررسی از روش رادیوامینواسی RIA استفاده شد. برای انجام آزمایش GAD65 Ab بر اساس روش RIA، از کیت شرکت Kronus واقع درایالت کالیفرنیا استفاده کردیم، حساسیت این تست توسط کمپانی ۹۰ درصد اعلام شده است.

نتایج

از ۳۰ نفر بیمار دیابتی نوع I (کنترل مثبت) بین سنین ۴۰-۱۰ سال که مدت ابتلا آنها به دیابت از یک هفته تا ۲۰ سال (میانگین ۴/۲۲ سال) گزارش گردید، ۱۹ نفر (۶۳/۳ درصد) از آنها واجد تیتر مثبت Anti GAD65 بودند (۱۱ نفر زن و ۸ نفر مرد) (جدول ۱).

از ۵۰ نفر (۲۵ نفر زن و ۲۵ نفر مرد) وابستگان درجه اول بیماران دیابتی (گروه پژوهش)، ۴ نفر (۸ درصد) واجد تیتر مثبت Anti GAD65 بودند (۳ زن و ۱ نفر مرد).

از ۸۰ نفر (۴۰ زن و ۴۰ مرد) افراد سالم (گروه کنترل منفی)، که بین ۳۰-۱۰ سال سن داشتند همگی دارای Anti GAD65 منفی بودند.

جدول ۱) نتایج اندازه‌گیری تیتر Anti-GAD در بیماران دیابتی، بستگان درجه یک آنها و گروه شاهد

	Anti GAD(+)		Anti GAD(-)	
	مرد	زن	مرد	زن
بیماران دیابتی NIDDM n= ۳۰	۸	۱۱	۵	۶
بستگان درجه یک NIDDM n= ۵۰	۱	۳	۲۴	۲۲
افراد سالم n= ۸۰	۰	۰	۴۰	۴۰

بحث

از ویژگی‌های بیماری دیابت وابسته به انسولین، حضور آنتی‌بادی‌های ضدسلول‌های جزیره‌ای (Islet cell antibodies)، اتوآنتی‌بادی‌های انسولینی و آنتی‌بادی‌های ضدآنزیم GAD است (۳ و ۷). ایزوفرم با وزن ملکولی کم GAD، یعنی GAD65 که در جزایر پانکراس انسانی دیده می‌شود، مهمترین هدف آنتی‌بادی‌های انسانی در بیماری IDDM می‌باشد؛ مطالعات آینده‌نگر در بستگان درجه اول این بیماران نشان داده‌اند که اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های ضد سلول‌های جزیره‌ای، اتوآنتی‌بادی‌های ضد انسولین و anti-GAD می‌توانند در ارزیابی خطر بروز IDDM در این افراد بکار روند (۸). در بیماران دیابتی غیروابسته به انسولین، حضور آنتی‌بادی بر علیه GAD نشانگر آن است که این بیماران شاید یک زیرمجموعه‌ای از بیماران IDDM خفته باشند، تخمین زده شده است که ۵ تا ۹ درصد از بیماران NIDDM در این شرایط قرار دارند که از لحاظ بالینی شبیه بیماران IDDM می‌باشند؛ مانند عدم چاقی، نیاز به انسولین و تاریخچه‌ای منطبق با بروز کیتواسیدوز و سطح پایین C-Peptide (۹).

در این پژوهش، اندازه‌گیری اتوآنتی‌بادی Anti-GAD، برای نخستین بار در ایران انجام شده است، در حالی که تحقیقات در مورد anti-GAD65 از نیمه اول دهه ۱۹۸۰ در سطح جهانی آغاز شده و هنوز به طور جدی ادامه دارد، در نژاد قفقازی، anti-GAD65 در ۶۰-۹۰ درصد از افراد IDDM که اخیراً آغاز شده، گزارش گردیده است (۱۱). در حالیکه در نژاد آسیایی در کره و چین، شیوع این آنتی‌بادی در بیماران IDDM از ۵ تا ۲۹ درصد گزارش شده است؛ در مطالعه چند مرکزی که در ژاپن نیز انجام گردیده، این آنتی‌بادی در ۳۵/۴ درصد از ۹۲۱ بیمار IDDM یافت گردیده است.

از این رو چنین نتیجه گرفته شده است که ممکن است پدیده خود ایمنی بعنوان فاکتور عمده در ایجاد پاتوژنز IDDM در این نژاد نقش نداشته باشد (۱۱ و ۱۲).

براساس مطالعه ما، ۱۹ نفر (۶۳/۳ درصد) از بیماران دیابتی نوع I، دارای anti-GAD65 بودند و ۸ درصد از بستگان درجه اول آنها نیز دارای تیتر مثبت آنتی‌بادی بودند؛ که از این لحاظ همانند نتایج آقای سرانو و همکاران است که از اسپانیا گزارش شده است (۱۳)؛ از ۲۸ بیمار دیابتی تیپ I آنها، ۶۴/۳ درصد و از بستگان درجه اول بیماران ۹/۸ درصد دارای آنتی GAD مثبت بودند. از این رو به نظر میرسد پدیده ایمنی در ایجاد دیابت I در ایران نیز نقش داشته باشد.

گفته شده است که طول مدت ابتلاء به IDDM اثر ناچیزی برفراوانی آنتی GAD دارد(۱۴). در حالیکه واندی واله و همکاران نشان داده‌اند که شیوع آنتی GAD در بیماران IDDM در سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی بالاتر (۴۲/۲ درصد) از افراد جوان‌تر (زیر ۲۰ سالگی: ۳۷/۸ درصد) است (۱۵). هر چند در مطالعه ما نمی‌توان از فراوانی بر اساس گروههای سنی بدلیل کمی حجم نمونه سخن گفت، اما بنظر می‌رسد که در افراد IDDM بالای ۲۰ سال نیز هنوز Anti GAD65 مثبت در بیش از ۵۰ درصد از افراد حضور داشته باشد که این نشانگر این دیدگاه است که آنتی GAD در گردش خون سالها بر جای مانده و بتدریج کاهش می‌یابد (برعکس آنتی‌بادی‌های ضد سلول‌های جزایر پانکراس).

در این مطالعه، از ۸۰ نفر افراد کنترل سالم (شامل ۴۰ نفر زن و ۴۰ نفر مرد) ۶۲ نفر واجد تیتر Anti- GAD65 مساوی صفر و ۱۸ نفر بقیه واجد تیتر بین 0.348-0.751 U/L بودند؛ که بر مبنای تیتر مثبت رفرنس (Anti GAD+65 ≥1 U/L) تماماً منفی تلقی شدند، چونکه براساس سایر تحقیقات انجام شده بایستی ۲ـ۵ درصد افراد نرمال واجد Anti-GAD65 مثبت باشند (۶). این تیتر مثبت در افراد سالم ناپایدار و در واقع یک اتوایمیونیتی گذرا نسبت به GDA است.

همچنین ۸ درصد (۴ نفر) از ۵۰ نفر وابستگان درجه اول بیماران نیز واجد Anti-GAD65 مثبت بودند

که براساس سایر تحقیقات انجام شده تا ۱۰ درصد از وابستگان IDDM، بر مبنای استعداد ژنتیکی خود می‌توانند واجد آنتی GAD باشند؛ پس این تست می‌تواند در وابستگان درجه اول بیماران دیابتی نوع ابعنوان یک تست پیش گویی کننده بکار رود.

هم چنین در مورد استعداد ژنتیکی با توجه به سابقه خانوادگی در این مطالعه، ۷ بیمار از ۱۹ بیمار واجد تیتر مثبت Anti-GAD65 دارای والدین دیابتی بودند که این نیز از اهمیت ویژه ای برخورداراست. در نهایت، نظر به اهمیتی که Anti GAD مثبت در پیش بینی دیابت نوع I دارد، امید است در کشور ما نیز اقداماتی در جهت رایج نمودن انجام این آزمایش بالینی صورت پذیرد تا بدین وسیله، وقوع خطر بروز IDD در بستگان درجه اول این بیماران مورد ارزیابی قرار گیرد.

مراجع

1. Zimmet P. Antibodies to glutamic acid decarboxylase in the prediction of insulin dependency. Diabetes Res Clin Pract 1996; 34(Suppl 1): 5125-31.
2. Sabbah E, Kulmala P, Veijola R, et al. Glutamic acid decarboxylase antibodies in relation to other autoantibodies and genetic risk markers in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes. J Clin Endocrinal Metab 1996; 81:2455-9.
3. Backkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, et al. Indentification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. Nuture 1990; 347:151-156.
4. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, et al. 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.
5. Panina BP, Lang R, Van-Endert PM, et al. Cytotoxic T cells specific for glutamic acid decarboxylase in autoimmune diabetes. J Exp Med 1995; 181:1923-7.
6. Tuomilehto J. Antibodies to glutamic acid decarbosylase as predictors of insulin dependent diabetes mellitus before clinical onset of disease. Lancet 1994; 343:1383-5.
7. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science 1983; 222:1337-9.
8. Schmidli RS, Colman PG, Bonifacio E, et al. Disease sensitivity and specificity of 52 assays for glutamic acid decarboxylase antibodies. Diabetes 1995; 44:636-40.
9. Niskanen LK, Tuomi T, Karjalainen J, et al. GAD Ab in NIDDM. Ten-year follow-up from the diagnosis. Diabetes Care 1995; 18:1557-65.
10. Peterson JS, Hejnaes KR, Moody A, et al. Detection of GAD65 antibodies in diabetes and other autimmune diseases using a simple radioligand assay. Diabetes 1994; 43:459-67.
11. Tsurouka A, Matsuba I, Toyota T, et al. Antibodies to GAD in Japanese diabetic patients: a multicenter study. Diabetes Res Clin Pract 1995; 28:191-9.
12. Thai AC, Ng WY, Loke WR, et al. Anti-GAD antibodies in Chinese patients with youth and adult-onset IDDM and NIDDM. Diabetologia 1997; 40:1425-30.
13. Serrano RM, Gutierroz LM, Perez BF, et al. HLA, DQ and anti-GAD antibodies in first degree relatives of type 1 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract 1996; 34 (Suppl 1): S133-9.
14. Myers MA, Rubin DU, Rowley MJ. Pancreatic islet cell cytoplasmic antibody in diabetes is represented by anti-bodies to islet cell antigen 512 and glutamic acid decarboxylase. Diabetes 1995; 44:1290-5.
15. Vandewalle CL, Falorni A, Svanldm S, et al. High diagnostic sensitivity of glutamate decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes mellitus with clinical onset age 20 and 40 years. J Clin Endocrinal Metab 1995; 80:846-51.