

11237
2ej
167



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Postgrado
Hospital General Centro Médico La Raza
Instituto Mexicano del Seguro Social

DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA LAS
CELULAS DE LOS ISLOTOS PANCREATICOS EN
PACIENTES PEDIATRICOS CON DIABETES
MELLITUS TIPO I

TESIS RECEPCIONAL

Que para obtener el grado de
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA
MEDICA

Presenta el
DR. MARCO RENE VACA ARELLANO



México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1936



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE:

I.- DATOS GENERALES	1
II.- DISEÑO DE INVESTIGACION	2
III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
IV.- RAZONAMIENTO DEL TRABAJO	8
V.- HIPOTESIS	9
VI.- PACIENTES Y METODOS	9
VII.- RESULTADOS	11
VIII.-DISCUSION	12
IX.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	20

I.- DATOS GENERALES

1.- TITULO DEL PROYECTO

" DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA CELULAS DE LOS ISLOTES
PANCREATICOS EN PACIENTES PEDIATRICOS CON DIABETES MELLITUS TIPO I "

2.- OBJETIVO

Conocer la frecuencia de anticuerpos contra células de los islotes pancreáticos en pacientes con diabetes mellitus insulino-dependiente que se atienden en el servicio de Endocrinología Pediátrica del Centro Médico La Raza.

II.- DISEÑO DE INVESTIGACION

1.- ANTECEDENTES CIENTIFICOS

En la diabetes mellitus tipo I o dependiente de la insulina(DDI) hay una pérdida severa de las células beta(hoy llamadas células B)(1).

El páncreas endócrino del adulto se ha estimado que tiene una masa de 1.5 gramos(2), distribuida en:65% para las células B productoras de insulina, 17% para las A que son productoras de glucagón, 9% para las D, productoras de somatostatina y 9% para las que producen polipéptido pancreático(PP).

Los estudios morfológicos realizados con inmunofluorescencia indirecta de cortes de páncreas de ratón con diabetes severa e insulinopenia, mostraron disminución marcada de la proporción de células que contienen insulina, al mismo tiempo que incremento en la proporción de las células que contienen glucagón, somatostatina y polipéptido pancreático; además de pérdida de la relación topográfica característica con localización central de las células B y situación periférica de las células A, D y PP (3).

Cuando se manifiesta la DDI hay una disminución de la masa celular, con pérdida del 70-95% de las células B(1). La pérdida o depleción de las células B determina hipoinsulinemia e incapacidad para el control de la glucosa.

Se ha sugerido la existencia de un fenómeno directo en contra de los islotes de Langerhans en la diabetes tipo I (4).

Ante una agresión externa o una infección el organismo es capaz de responder con mecanismos inmunes. Estos mecanismos inmunes son innatos o

adquiridos. Los adquiridos comprenden el desarrollo y expansión de ciertos linfocitos capaces de reconocer un antígeno específico. El resultado es el desarrollo de linfocitos B que producen anticuerpos.(5).

Se denominan autoanticuerpos a aquellos que pueden reaccionar con un antígeno particular presente en una célula normal del cuerpo. Los autoanticuerpos están asociados con enfermedades endócrinas como la enfermedad de Graves, mixedema, enfermedad de Hashimoto, Addison idiopático y otras más. En algunos de estos padecimientos es posible demostrar anticuerpos órgano-específicos (5).

El suero de pacientes con DDI suprime la liberación de insulina inducida por glucosa en los islotes de ratones in vitro (6). Esto es debido a fracciones de inmunoglobulinas presentes en el suero. Hay numerosas investigaciones que informan la presencia de anticuerpos en el suero de los pacientes con diabetes tipo I (7,8,9) los cuales reaccionan contra las células de los islotes de personas normales.

Los anticuerpos contra las células de los islotes pueden ser detectados por inmunofluorescencia indirecta (10,11), por la prueba de inmunofluorescencia con fijación de complemento (12,13). Otros métodos empleados para la determinación de estos anticuerpos son: hemaglutinación, radioinmunoanálisis con antígenos purificados, análisis de inmunoadsorbencia ligado a enzima (ELISA)(5).

Los anticuerpos se han estudiado por procedimientos de inmunofluorescencia en cortes de páncreas de cadáveres con tipo sanguíneo O (14), para evitar un marcado inespecífico por anticuerpos anti A y anti B al realizar el procedimiento en páncreas A y B.

Hay un período de latencia antes del desarrollo de la diabetes manifiesta, en el que los anticuerpos contra las células de los islotes pueden

estar presentes (15). Los anticuerpos pueden preceder al inicio de la diabetes en cerca de 3 años si los pacientes no tienen compromiso endócrino agregado y su presencia está asociada con una declinación progresiva en la función de las células beta, durante la fase prediabética de la enfermedad (16).

Los estudios con inmunofluorescencia indirecta de cortes de páncreas (17) mostraron anticuerpos presentes en el suero de pacientes con DDI, que reaccionan con los componentes intracelulares, por lo que fueron designados como anticuerpos contra el citoplasma de las células de los islotes (ICA). Sueros positivos para ICA dan un patrón de inmunofluorescencia uniforme en el citoplasma, que afecta a todas las células de los islotes y no son selectivos para las células B (14).

La mayor parte de ICAs aparecen como inespecíficos de especie (6), -- reaccionan también en forma cruzada con los islotes de ratas, cobayos y monos rhesus (18).

Los anticuerpos contra las células de los islotes están presentes al inicio de la diabetes, pero disminuyen después (15). La frecuencia de ICAs sin tomar en cuenta la duración de la enfermedad es de 15 a 30% (19). En las primeras semanas de la enfermedad se informa una frecuencia de 60 a -- 70% (20). Otro estudio (8) encontró 45.4% en los primeros 6 meses y declinación posterior. Un 20% de pacientes pueden persistir con ICA varios años después del diagnóstico y tratamiento con insulina (13). En la población general la frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes está entre 0.5 y 4% (8,9,10,13).

Los familiares en primer grado de pacientes con DDI muestran un incremento de anticuerpos tanto para el citoplasma (ICA) como contra la superficie de las células de los islotes (ICSA)(9,10), éste difiere de los re -

sultados de un estudio posterior (21) en que se informa igual frecuencia - de ICA entre parientes cercanos de pacientes con DDI y controles sanos sin historia familiar de diabetes.

En estudios de gemelos discordantes para diabetes (sólo uno enfermo). el hallazgo más frecuente de ICA en el diabético que en el no diabético, - sugiere que ICAs están asociados con DDI (15). En un estudio de trillizos- discordantes para diabetes (22) uno de los que no tenía enfermedad mani -- fiesta mostró anticuerpos contra las células de los islotes y desarrolló - diabetes posteriormente. Los ICAs se encuentran rara vez en diabéticos no dependientes de la insulina y probablemente no juegan un papel importante en la etiología de este tipo de diabetes (15).

Los ICAs son IgG, la mayor parte son IgG2 e IgG4 (18). Actúan contra- los componentes del citoplasma, pero no son citotóxicos para las células - de los islotes (10). Los ICA pueden desarrollarse secundariamente como res puesta al daño de las células. Parece poco probable que los anticuerpos -- contra el citoplasma de las células de los islotes tengan importancia pato génica, ya que ellos reaccionan únicamente con los componentes intracelula res que son iraccesibles en las células vivas (5).

Un anticuerpo unido a un antígeno puede ser reconocido por los compo- nentes del sistema del complemento. La unión con el complemento lleva a -- una activación de las reacciones en cascada y determina un ataque lítico a la membrana plasmática con alteraciones de la permeabilidad y muerte celu- lar (5). El 70% de ICAs presentes al momento del diagnóstico de DDI fijan- el complemento (CF-ICA), después esta proporción disminuye al 50% (18).

Hay evidencia de que los anticuerpos contra las células de los islo - tas fijadores de complemento son una subespecie independiente de la subcla se IgG (13). Los CF-ICA pueden reflejar con mayor selectividad daño de las

células B y preferirse como un marcador serológico en el estudio de la historia natural de la diabetes tipo I. La citotoxicidad de CF-ICA contra los islotes ha sido demostrada utilizando la prueba de liberación de cromo radioactivo (10). Los CF-ICA podrían predecir la enfermedad antes de que la curva de tolerancia a la glucosa se haga anormal (23).

En el suero de los pacientes con DDI se encuentran anticuerpos que se ligan a la superficie de las células vivas. Las células vivas son impermeables a estos anticuerpos, que se fijan a antígenos presentes en la superficie exterior, son los anticuerpos contra la superficie de las células de los islotes (ICSA), los mismos que han sido demostrados por inmunofluorescencia indirecta (24).

La determinación en células de roedores vivos precisó una frecuencia de ICSA de 2 a 4% en los controles y de cerca del 80% en los nuevos casos de DDI (24).

Los sueros positivos con anticuerpos contra la superficie de las células de los islotes son citotóxicos para las células B. Los ICSA son altamente líticos para las células B (81%) y escasamente para los otros tipos celulares (25). Las propiedades líticas de los ICSA hacen suponer una acción de mediadores primarios en el daño inmunológico.

Se presume que los ICSA tienen reacción cruzada con antígenos presentes en la superficie de las células B de ratas y de humanos (25).

Se encontraron los ICSA en un 25% de parientes cercanos de diabéticos tipo I, por lo que se cree que la presencia de ICSA no es suficiente para la producción de la enfermedad (10). Se han sugerido factores desencadenantes. Los agentes virales pueden inducir lesión aguda de las células B y aumentar la cantidad de autoantígenos de células beta, lo que podría activar

los linfocitos para la producción transitoria de anticuerpos específicos - (8). Los anticuerpos para Coxsackie B2, virus de la rubeola y M. pneumo -- niae, se encontraron con más frecuencia en gemelos discordantes para diabe -- tes, que en los concordantes (26).

Es probable que los ICSA sean mediadores en forma directa del daño in -- munológico, ya que pueden estar dirigidos contra las células productoras -- de insulina (24).

Se han identificado otros anticuerpos en pacientes diabéticos. Hay -- una frecuencia mayor de anticuerpos antinucleares, contra músculo estriado y las células parietales del estómago en esta población que en los contro -- les (27). Los anticuerpos antitiroides y contra las células parietales fue -- ron 2 a 3 veces más frecuentes en parientes cercanos a diabéticos, que en -- los controles sin historia familiar de diabetes (21).

Los ICA persistentes se han encontrado en pacientes con anticuerpos -- órgano-específicos (OSA)(8). Mientras los ICAs tienden a disminuir, los -- OSA se mantienen estables (27). Además hay una frecuencia elevada de DDI -- en los pacientes con enfermedades autoinmunes como tiroiditis de Hashimoto enfermedad de Graves.

Con el empleo de inmunofluorescencia indirecta Maclaren identificó -- otro sustrato útil para la identificación de inmunidad humoral en los dia -- béticos : Células de insulinooma de tejido humano cultivado. Los anticuer -- pos que reaccionan con este sistema son tanto IgM como IgG y se encontra -- ron en 87% de diabéticos tipo I, independientemente de la duración de la -- enfermedad (18).

De todo lo mencionado anteriormente se deduce que no se conoce aún -- con certeza el papel de la inmunidad humoral en la patogenia de la diabe -- tes tipo I y que no existe, un marcador seguro que permita predecir la en -- fermedad.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el Servicio de Endocrinología Pediátrica del Hospital General del Centro Médico la Raza, la causa más frecuente de consulta subsecuente e internamiento constituye la diabetes mellitus tipo I. En la actualidad se considera la enfermedad como un padecimiento autoinmune. Diversos estudios realizados en otros sitios han determinado la frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes en la población general y su predominio en los diabéticos tipo I; además se ha buscado un marcador inmunológico que permita predecir la enfermedad antes de que se manifieste.

La falta de estudios en nuestro medio nos motivó a realizar este trabajo preliminar para determinar la frecuencia de dichos anticuerpos y compararlos con los informes de otros autores.

IV.- RAZONAMIENTO DEL TRABAJO

- 1.- Se supone que la diabetes mellitus tipo I tiene una probable causa inmunológica.
- 2.- Los padecimientos de origen inmunológico son capaces de producir anticuerpos.
- 3.- Por lo tanto, si la diabetes mellitus tipo I tiene origen inmunológico, los pacientes portadores de dicho síndrome tendrán la potencialidad de formar anticuerpos contra las células de los islotes pancreáticos.

V.- HIPOTESIS

HIPOTESIS DE NULIDAD (H₀):

La frecuencia de anticuerpos contra células de los islotes en niños mexicanos con diabetes tipo I es igual a la informada en otras partes del mundo.

HIPOTESIS ALTERNA (H₁):

La frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes en niños mexicanos con diabetes tipo I, es diferente a la informada en otras partes del mundo.

VI.- PACIENTES Y METODOS

Se estudiaron 31 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo I, controlados en el servicio de Endocrinología Pediátrica del Hospital General del Centro Médico La Raza, con edades que variaron entre los 2 y los 18 años. El promedio de edad (\pm DE) fue de 12 ± 4 años y el promedio de duración de la enfermedad fue de 3.2 ± 1 años. 5 pacientes (16%) fueron del sexo masculino y los restantes 16 (84%) del sexo femenino. 18 niños diabéticos (58%) tenían antecedentes familiares de la enfermedad y 13 (42%) carecían de ellos.

El grupo control (pacientes no diabéticos, clínicamente sanos) se conformó con 20 pacientes, cuyas edades variaron entre los 6 y los 15 años, con una edad promedio de 10.6 ± 2.7 años, de éstos, 14 (70%) fueron de sexo

femenino y 6 (30%) de sexo masculino. 5 pacientes (25%) tenían antecedentes familiares de diabetes en sus parientes cercanos (hasta los abuelos) y 15 (75%) carecían de ellos.

En todos los niños de ambos grupos se obtuvo por venipunción una muestra de 8 ml de sangre venosa, la misma que fue centrifugada por 5 minutos. Se separó el suero y se almacenó en congelación a menos 20°C hasta su procesamiento. Para el procedimiento se descongeló el suero y se realizaron diluciones 1:1, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 y 1:128.

Se utilizaron páncreas de ratones F1 (cepa obtenida del cruzamiento de C57 y Ball) a los cuales se sacrificó y se extrajo inmediatamente el páncreas. En crióstato se realizaron cortes de 6 micrómetros de espesor del tejido pancreático, los mismos que se montaron en número de 8 por cada lámina portaobjetos.

Para la detección de los anticuerpos contra las células de los islotes, se utilizó técnica standard de inmunofluorescencia indirecta de acuerdo a los siguientes pasos:

- 1.- Los cortes de tejido pancreático fueron secados sobre la lámina portaobjetos y luego fijados con acetona por 60 segundos.
- 2.- Se lavó con PBS (cloruro de sodio-cloruro de potasio-fosfato de sodio-fosfato de potasio-agua destilada) con pH de 7.20 por 20 minutos.
- 3.- Se añadieron 10 ul de las diferentes diluciones del suero de los pacientes a cada corte de tejido asignado previamente para dicha dilución.
- 4.- Se incubaron en cámara húmeda a una temperatura de 24°C por 30 minutos.
- 5.- Se procedió a lavar con PBS (pH de 7.20) por 10 minutos.
- 6.- Se añadieron 10 ul de conjugado polivalente de inmunoglobulina antihu-

mana con fluoresceína (Hoechst-Behring, hecho en Alemania).

- 7.- Se dejó 30 minutos en cámara húmeda oscura con una temperatura de -- 24°C.
- 8.- Se lavó con PBS (pH de 7.20) por 10 minutos.
- 9.- Las láminas una vez cubiertas fueron examinadas con un microscopio uni-
versal Zeiss con epi-iluminación. Las células de los islotes mostraron
una fluorescencia amarillo-verdosa.

VII.- RESULTADOS

Para fines de nuestro trabajo se consideraron como positivos -- los cortes en los que se encontraron islotes pancreáticos marcados con -- fluoresceína.

De los sueros de los diabéticos, 11 (35.4%) fueron positivos para anticuerpos contra las células de los islotes pancreáticos (ICAs) y 20(64.6%) fueron negativos (cuadro 1).

En consideración al tiempo de evolución de la enfermedad se conformaron 2 grupos: A.) con los pacientes con una evolución menor de 1 año, en los cuales 6 sueros (66.6%) fueron positivos para ICAs y 3 (33.4%) negativos. En el grupo B.) con más de un año de evolución, 5 sueros (22.7%) fueron positivos y 17 (77.3%) negativos para ICAs (cuadro 2).

De 13 pacientes diabéticos sin antecedentes de diabetes entre sus familiares, 4 sueros (30.8%) tuvieron anticuerpos contra las células de los islotes (cuadro 3).

En el grupo control, el suero de 7 (35%) de los 20 voluntarios fue positivo para ICAs (cuadro 4).

Cinco niños del grupo control tuvieron antecedentes familiares de diabetes y 1 (20%) fue positivo para ICAs. De los 15 niños control sin historia familiar de diabetes, 6 sueros (40%) fueron positivos para ICAs (cuadro 5).

Al comparar los casos positivos para ICAs del grupo de diabéticos y el grupo control, no se encontró diferencia estadísticamente significativa.

La comparación entre los casos positivos para ICAs entre el grupo de pacientes diabéticos con menos de un año de evolución y el grupo con más de un año de evolución, arrojó diferencia significativa ($X^2 = 5.38$; $p < 0.02$)

No encontramos diferencia estadísticamente significativa al comparar los sueros ICAs positivos de los pacientes con antecedentes familiares de diabetes, con los casos positivos del grupo control con antecedentes de la enfermedad.

La comparación de los resultados en el grupo control, tomando en cuenta la presencia o la ausencia de antecedentes familiares de diabetes mellitus, no fue estadísticamente significativa.

VIII.- DISCUSION

Algunas investigaciones sugieren que mecanismos inmunes, tanto humoral como celular, contribuyen al menos en parte a la patogenia de la diabetes mellitus dependiente de insulina.

Estudios previos permiten afirmar el hecho de que las células de los islotes de ratones participan de algunos determinantes antígenicos presentes en los islotes humanos y gracias a esta reacción cruzada de especie, posibilitan el estudio de autoanticuerpos para las células de los islotes hu

manos (24). Los anticuerpos pueden ser detectados por inmunofluorescencia indirecta en cortes fijados de tejido (10,11). Lo antes señalado nos permitió tratar de identificar por tal procedimiento, tanto en los niños diabéticos como en los controles, la presencia de anticuerpos anticélulas pancreáticas.

Nuestro hallazgo de una frecuencia de ICAs de 35.4% en niños diabéticos independientemente del tiempo de evolución de la enfermedad, es algo más elevado que el 15 al 30% informado previamente (19). En los diabéticos con evolución de menos de 1 año la frecuencia encontrada en nuestro estudio fue de 66.6%, la cual concuerda con los informes de 60 a 70% en las primeras semanas de la enfermedad (20) y es algo mayor que la reportada por Del Prete y col de 45.4% en los primeros 6 meses (8). En algunos pacientes los anticuerpos tienden a desaparecer dentro del primer año del diagnóstico, sin haber una explicación convincente, involucrandose posiblemente a la desaparición de células beta (5).

En el grupo control encontramos una frecuencia de positividad para ICAs de 35%, la cual está muy por arriba de la informada para la población general de 0.5 a 4% (8-10,13), esto podría explicarse por lo pequeño de nuestro grupo, ya que se trata de un estudio preliminar, por lo que no es factible hacer una proyección sobre la población en general.

Ya que se ha informado que los anticuerpos contra las células de los islotes pueden estar presentes en el período de latencia de la diabetes (15), hasta 3 años antes del diagnóstico (16), convendría realizar el seguimiento de los controles con positividad para los anticuerpos, para ratificar o rectificar lo señalado.

Se han encontrado anticuerpos contra las células de los islotes, en pacientes en los que el inicio de la DDI es precedida de infección viral.

Los anticuerpos contra el citoplasma de las células de los islotes han sido encontrados únicamente en niños con parotiditis y no en aquellos con virus Coxsackie, del sarampión, de la rubeola o influenza (28). Los agentes virales pueden inducir lesión aguda de las células beta y aumentar la cantidad de autoantígenos de células beta, lo que podría activar los linfocitos para la producción transitoria de anticuerpos específicos (8); estos factores actuarían como desencadenantes, ya que se ha encontrado que la presencia de anticuerpos contra células de los islotes no es suficiente para la producción de la enfermedad (10).

Nuestro hallazgo de elevada positividad de anticuerpos en el grupo control con el empleo de una técnica muy sensible como es la inmunofluorescencia indirecta, nos induce a realizar una revisión y estandarización de este procedimiento para su futura utilización.

DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA LAS CELULAS DE LOS ISLOTES PANCRFATICOS

RESULTADOS

GRUPO DE DIABETICOS

<u>CASO</u>	<u>ICAs en suero</u>	<u>CASO</u>	<u>ICAs en suero</u>
1	-	27	-
2	+	28	-
7	-	29	-
8	+	31	+
9	-	32	-
12	-	35	-
14	+	41	+
15	-	42	-
16	-	43	+
17	-	44	-
18	-	45	-
19	-	46	+
20	-	48	-
21	+	49	+
22	+	50	-
26	+		

DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA LAS CELULAS DE LOS ISLOTES PANCREATICOS
RESULTADOS

GRUPO CONTROL

<u>CASO</u>	<u>ICAs en suero</u>	<u>CASO</u>	<u>ICAs en suero</u>
3	+	30	+
4	-	33	-
5	-	34	+
6	+	36	-
10	-	37	-
11	+	38	-
13	-	39	+
23	-	40	-
24	-	47	+
25	-	51	-

Cuadro 1

Frecuencia de anticuerpos contra células de los islotes pancreáticos en el suero de 31 pacientes con diabetes mellitus tipo I	
con anticuerpos	sin anticuerpos
11 (35.4%)	20 (64.6%)

Cuadro 2

Frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes pancreáticos en pacientes con diabetes mellitus tipo I, según el tiempo de evolución de la enfermedad.			
Con menos de un año de evolución		Con más de un año de evolución	
con anticuerpos	sin anticuerpos	con anticuerpos	sin anticuerpos
6 (56.6%)	3 (33.4%)	5 (22.7%)	17 (77.3%)

$$\chi^2 = 5.38$$

$$p < 0.02$$

Cuadro 3

Frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes pancreáticos en el suero de pacientes con diabetes tipo I según los antecedentes familiares de la enfermedad			
con antecedentes		sin antecedentes	
con anticuerpos	sin anticuerpos	con anticuerpos	sin anticuerpos
7 (38.8%)	11 (61.2%)	4 (30.8%)	9 (69.2%)

$$\chi^2 = 0.21$$

p = NS

Cuadro 4

Frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes pancreáticos en 20 niños del grupo control	
con anticuerpos	sin anticuerpos
7 (35%)	13 (65%)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Cuadro 5

Frecuencia de anticuerpos contra las células de los islotes pancreáticos en 20 niños del grupo control, según los antecedentes familiares de diabetes.			
con antecedentes		sin antecedentes	
con anticuerpos	sin anticuerpos	con anticuerpos	sin anticuerpos
1 (20%)	4 (80%)	6 (40%)	9 (60%)

$\chi^2 = 0.65$
D = NS

IX.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Gepts W and Le Compte RM. The pancreatic islets in diabetes. *Am J Med* - 1981; 70: 105-115.
2. Rahier J, Wallon J and Henquin JC. Cell populations in the endocrine -- pancreas of human neonates and infants. *Diabetologia* 1981; 20:540- 546
3. Baeters D, Stefan Y, Ravazzola M, Malaisse-Lagae F, Coleman DL and Orci L. Alterations of Islet Cell Populations in Spontaneously Diabetic Mice *Diabetes* 1978; 27: 1-7.
4. Cahill GF and McDebitt HO. Insulin dependent diabetes mellitus: the -- initial lesion. *N Engl J Med* 1981; 304: 1454-1465.
5. Brogren CH and Lernmark A. Islet cell Antibodies in Diabetes. *Clin Endo crinol Metab* 1982; 11(2): 409-430.
6. Sai P, Boitard Ch R, Debray-Sachs M, Pouplard A, Assan R and Hamburger- J. Complement-fixing Islet Cell Antibodies from Some Diabetic Patients- Alter Insulin Release-In Vitro. *Diabetes* 1981; 30: 1051-1057.
7. Irvine WJ, Gray RS, Mc Callum CJ. Pancreatic islet-cell antibody as a - marker for asymptomatic and latent diabetes and prediabetes. *Lancet* 1976; 2: 1097-1102.
8. Del Prete GF, Betterle C, Padovan D, Erle G, Toffolo A, Bersani G. Inci - dence and significance of islet-cell autoantibodies in different types- of diabetes mellitus. *Diabetes* 1977; 26: 909-915.
9. Irvine WJ, Mc Callum CJ, Gray RS, Campbell C J, Duncan LJP, Farquhar JW, Vaughan H and Norris PJ. Pancreatic Islet-cell Antibodies in Diabetes - Mellitus Correlated with the Duration and Type of Diabetes, Coexistent- Autoimmune Disease, and HLA Type. *Diabetes* 1977; 26: 138-147.
10. Dobersen MJ, Scharff JE, Ginsberg-Fellner F and Notkins AL. Cytotoxic -

autoantibodies to beta cells in the serum of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1980; 303(26): 1493-1498.

11. Sewell H, Smith DI, Willox A, Barnes CA and Matthews JB. Demonstration - of islet-cell antibodies. *Lancet* 1980; 1: 102-103.
12. Betterle C, Caretto A, Tiengo A and Trevisan A. Complement fixing islet cell antibodies in type I diabetes and in susceptible patients with autoimmune disease. *Lancet* 1980; 1: 1418-1419.
13. Bottazzo GF, Gorsuch AN, Dean BM, Oudworth AG and Doniach D. Complement-fixing islet-cell antibodies in type I diabetes: possible monitors of active beta-cell damage. *Lancet* 1980, 1: 668-672.
14. Bottazzo GF, Florin Christensen A and Doniach D. Islet cell antibodies - in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*-1974; 2: 1279-1283.
15. Lendrum R, Nelson FG, Pyke DA, Walker G and Gamble DR. Islet-cell, thyroid and gastric autoantibodies in diabetic identical twins. *Br Med J* 1976; -- 1: 553-555.
16. Srikanta S, Ganda Om P, Eisenbarth GS and Scoldner JS. Islet-cell antibodies and beta-cell function in monozygotic triplets and twins initially discordant for type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1983; 308(6): 322-325.
17. Bottazzo GF and Lendrum R. Separate autoantibodies to human pancreatic - glucagon and somatostatin cells. *Lancet* 1976; 2: 873-876.
18. Rose NR, Lorenzi M y Lewis M. Enfermedades endócrinas. En: Stites DP, -- Stobo JD, Fudenberg HH y Wells JV. *Inmunología básica y clínica*. Cuarta-Edición. Editorial El Manual Moderno SA de CV. México DF 1983, pp:664 -- 667.
19. Lendrum R, Walker GJ, Oudworth AG, Theophanides C, Pyke DA, Bloem A and

- Gamble DR. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus. *Lancet* 1976;2: 1273-1276.
20. Lendrum R, Walker G and Gamble DR. Islet cell antibodies in juvenile diabetes mellitus of recent onset. *Lancet* 1975; 1: 880-883.
 21. Nordén G, Jensen E, Stilbo I, Bottazzo GF and Lernmark A. B-Cell function and Islet Cell and Other Organ-Specific Autoantibodies in Relatives to Insulin- Dependent Diabetic Patients. *Acta Med Scand* 1983:199-203.
 22. Ganda OP, Soeldner JS, Gleason RE, Smith TM, Kilo C and Williamson JR. Monozygotic triplets with discordance for diabetes mellitus and diabetic microangiopathy. *Diabetes* 1977; 26: 469-479.
 23. Betterle C, Zanette F, Tiengo A and Trevisan A. Five- year follow-up- of non-diabetes with islet-cell antibodies. *Lancet* 1982; 1:284-285.
 24. Lernmark A, Freedman ZR, Hofmann C, Rubinstain AH, Steiner DF, Jackson RL, Winter RJ and Traisman HS. Islet cell surface antibodies in -- juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1978; 299: 375-380.
 25. Dobersen MJ and Scharff JE. Preferential Lysis of Pancreatic B-Cell by Islet Cell Surface Antibodies. *Diabetes* 1982; 31: 459-462.
 26. Nelson RG, Pyke DA and Gamble DR. Viruses and the aetiology of diabetes: A study in identical twins. *Br Med J* 1975; 4: 249-251.
 27. Dorchy H. Organ-specific antibodies in young diabetics. *Acta Paediatrica Scand* 1983; 72: 131-132.
 28. Helmke K, Otten A and Williams W. Islet cell antibodies in children - with mumps infection. *Lancet* 1980; 2: 211-212.