

## ALTERACIONES PANCREATOESPECIFICAS DE LA INMUNIDAD EN NIÑOS INFECTADOS CON VIRUS ECHO-4

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGIA

C.Dr. Angel Uriarte Rubio,\* Lic. Eduardo Cabrera Rode,\*\* Dr. Radamés Ventura Ramírez\*\* y Dr. José Vargas Díaz\*\*\*

### RESUMEN

Se encontró, durante un brote de meningoencefalitis provocado por un virus ECHO-4, que aproximadamente el 36 % de los niños infectados tenían anticuerpos contra el citoplasma de las células insulares pancreáticas (ICA), así como otras alteraciones de la inmunidad humoral y celular, tanto pancreatoespecíficas como inespecíficas. En algunos pacientes se halló un patrón de inmunofluorescencia de las células insulares que sugieren que, además de las células beta, otros tipos celulares pueden estar comprometidos.

### INTRODUCCION

Está demostrado que algunos virus pueden infectar y dañar las células betapancreáticas en humanos, así como en animales de experimentación; sin embargo, su identificación como agente causal de la diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) ha resultado difícil de probar, posiblemente porque la hiperglicemia representa una consecuencia tardía de la infección viral y que puede demorar varios años en manifestarse.

Se han detectado autoanticuerpos circulantes contra las células insulares pancreáticas (ICA) en sujetos no diabéticos, infectados con distintos

\* Investigador Titular. Jefe del Departamento de Inmunología. Instituto Nacional de Endocrinología (INEN), Zapata y D, Vedado, La Habana, Cuba.

\*\* Aspirante a Investigador. Departamento de Inmunología, INEN.

\*\*\* Especialista de I Grado en Pediatría. Hospital Pediátrico Docente "Pedro Borrás Astorga".

tipos de virus,<sup>2-5</sup> pero según la bibliografía revisada, no en sujetos infectados con virus ECHO.

El presente estudio fue realizado durante un brote de meningoencefalitis causado por un virus ECHO-4.

## MATERIAL Y METODO

El estudio comprende 133 niños hospitalizados con diagnóstico de meningoencefalitis, de los cuales 63 fueron estudiados nuevamente en el periodo de 1 a 6 meses posteriores. También incluimos 24 niños entre 1 y 6 meses de convalecencia después de la infección y sin ningún análisis inmunológico previo, durante la fase aguda de la enfermedad.

Las manifestaciones clínicas de la meningoencefalitis fueron: cefalea, fiebre, vómitos y somnolencia, con una recuperación total después de 4 a 5 días: afectó a niños de todas las edades.

El agente patogénico se aisló del líquido cefalorraquídeo y de heces fecales de pacientes e identificado como un virus ECHO-4, por neutralización con sueros de referencia aportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). En sueros apareados se confirmó el aumento de títulos de anticuerpos.

Como controles se utilizaron muestras de suero de niños hospitalizados en el mismo periodo por causas no endocrinológicas.

Los ICA y los anticuerpos antimicrosomales tiroideos (AMT), se detectaron por inmunofluorescencia indirecta en cortes de páncreas humano de grupo sanguíneo O, obtenidos de necropsias, fijados, en reactivo Bouin e incluidos en parafina<sup>6</sup> y en cortes por criostato de tejido tiroideo tirotóxico humano fresco, obtenido por cirugía,<sup>7</sup> respectivamente; los anticuerpos antitiroglobulina (ATG) se determinaron por la técnica de hemoaglutinación pasiva usando eritrocitos de carnero tanados y sensibilizados con tiroglobulina humana.<sup>8</sup>

Los linfocitos T formadores de roseta activa (LTA) se cuantificaron por la técnica de Wybran et al.<sup>9</sup> y el factor de inhibición de la migración de linfocitos (FIM) en respuesta a antígenos pancreáticos humanos se determinó de acuerdo con la técnica propuesta por Nerup.<sup>10</sup>

La prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTG) se realizó según los nuevos criterios de la OMS (1.75 g de glucosa/kg de peso), utilizando el método de la glucosa oxidasa.

Por diferentes razones, no se aplicó la totalidad de los exámenes inmunológicos a todas las muestras al principio del estudio.

El análisis estadístico se realizó según la prueba Chi-cuadrado.

## RESULTADOS

De los 133 sueros de niños en la fase aguda de la meningoencefalitis, 48 fueron ICA-positivos (36,09 %) ( $p < 0,005$ ); 8,57 % tenía anticuerpos antitiroglobulina y en el 43,63 % ( $p < 0,005$ ) encontramos valores dismi-

nudos de linfocitos T formadores de roseta activa (valores normales en nuestro laboratorio > 20 %). Todos los sueros controles dieron valores normales para estas determinaciones, excepto para los ATG donde el 2.85 % de los casos dio positivos (tablas 1 y 2).

**TABLA 1. Porcentaje de pacientes infectados con virus ECHO-4, portadores de alteraciones de la inmunidad humoral**

MEV-ECHO-4			
	Al diagnóstico %	A los 1-6 meses %	Controles
ICA	36.09* n : 133	24.13* n : 87	0 n : 35
ATG	8.57 n : 70	8.57 n : 70	2.85 n : 35
AMT	2.70 n : 37	0 n : 37	2.85 n : 35

\*p < 0.005 (Prueba Chi cuadrado).

Leyenda: MEV: meningoencefalitis viral; ICA: anticuerpos contra citoplasma de células insulares; ATG: anticuerpos antitiroglobulina; AMT: anticuerpos antimicrosomales tiroideos.

**TABLA 2. Porcentaje de pacientes infectados con virus ECHO-4, portadores de alteraciones de la inmunidad celular**

MEV-ECHO-4			
	Al diagnóstico %	A los 1-6 meses %	Controles %
LTA	43.63* n : 55	23.17** n : 82	0 n : 35
FIM	-	20.51*** n : 78	0 n : 42

\*p < 0.005

\*\*p < 0.02

\*\*\*p < 0.01 (Prueba Chi cuadrado).

Leyenda: MEV: meningoencefalitis viral; LTA: linfocitos T formadores de roseta activa; FIM: factor de inhibición de la migración linfocitaria.

Cuando se repitió el estudio a los 1 a 6 meses después de la recuperación de la enfermedad encontramos que el 24.13 % (p < 0.005) de los niños seguían manteniendo valores positivos de ICA y el 8.57 % de ATG; el 23.17 %

( $p < 0.02$ ) tenía niveles disminuidos de LTA. Ya en este momento habíamos incluido entre las pruebas de laboratorio la determinación del FIM en respuesta a antígenos pancreáticos; 16 de 78 (20.51 %) ( $p < 0.01$ ) de las muestras séricas fueron FIM-positivas (índice FIM  $> 0.7$ ).

Cuatro niños, que en el estudio inicial eran ICA-negativos, se convirtieron en positivos a los 2 meses después de la recuperación. En algunos casos encontramos un patrón de inmunofluorescencia no característico, lo que sugiere que otras células pancreáticas además de las beta, podían estar implicadas.

La PTG fue normal en todos los casos.

## DISCUSION

En la actualidad se han acumulado muchas evidencias que muestran, que excluyendo algunos raros casos de infección directa y masiva,<sup>11,12</sup> los virus pueden dañar los islotes pancreáticos sólo por mecanismos de tipo inmune de naturaleza compleja. Aún así, la diabetes sólo se desarrollaría en sujetos genéticamente predispuestos.

Entre los virus con más probabilidad de contribuir en la patogénesis de la DMID se encuentran el Coxsackie B, el de la parotiditis, el de la rubéola y el citomegalovirus.<sup>2-5</sup>

Nuestro estudio muestra que algunos pacientes en la fase aguda de meningoencefalitis causada por un virus ECHO-4, presentan alteraciones de la inmunidad humoral y celular, tanto pancreatoespecíficas como no organoespecíficas. De acuerdo con la frecuencia de autoanticuerpos tiroideos encontrados, aparentemente el virus no afecta la glándula tiroides.

No es raro que hasta el presente no se halla detectado ningún caso de posible daño pancreático provocado por virus ECHO. A pesar de que la mayoría de las variantes de este virus puedan no ser pancreatotóxicas, recientes estudios han demostrado que estos pequeños virus sufren mutaciones frecuentes y en condiciones naturales, pueden generar gran número de variantes,<sup>1</sup> algunas de las cuales, como en nuestro caso, capaces de inducir alteraciones inmunes con posible daño a las células insulares pancreáticas.

En el presente estudio hemos encontrado, que aun en el periodo de 1 a 6 meses después de la fase aguda de la infección, es posible detectar una alta incidencia de alteraciones inmunes y en 4 casos que no presentaban ICA al comienzo, dieron resultados positivos después de 2 meses.

Estos hallazgos deben alertarnos sobre el posible papel patogénico de los virus ECHO en la DMID y justifican el estudio de seguimiento que estamos llevando a cabo, en niños que sufrieron la infección.

## SUMMARY

During an outbreak of meningoencephalitis caused by the ECHO-4 virus it was found that about 36 % of infected children had antibodies to the cytoplasm of Langerhans' cells as well as to other changes in humoral and cellular immunity, both pancreatospecific and non-specific. In some patients an

immunofluorescence pattern of islet cells is found which suggests that in addition to beta cells, other types of cells may be involved.

## RESUME

On a trouvé, pendant une poussée de méningoencéphalite provoquée par un virus ECHO-4, qu'à peu près le 36 % des enfants infectés avaient des anticorps contre le cytoplasme des cellules insulaires pancréatiques (ICA). Ainsi que d'autres altérations de l'immunité humorale et cellulaire, tantôt spécifiques comme non spécifiques du pancréas. Dans quelques patients, on a trouvé un patron d'immunofluorescence des cellules insulaires qui suggère que, en plus des cellules bêta, d'autres types cellulaires peuvent être compris.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. TONIOLO, A.; T. ONODERA: Viruses and Diabetes. In: Andreani D., Di Mario U., Federlin K. F., Heding L. G. (eds.): Immunology in diabetes. London Kimpton Medical Publication, 1984, p. 71.
2. GAMBLE, D. R.: The epidemiology of insulin-dependent diabetes. with particular reference to the relationship of virus infection to its etiology. Epidemiol Rev 2: 49, 1980.
3. GINSBERG-FELLNER, F. ET AL.: The interrelationship of congenital rubella (CR) and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). Pediatr Res 14: 572, 1980.
4. HARTIG, P. C.; G. E. MADGE; S. R. WEBB: Diversity within a human isolate of Cocksackie B4: relationship to viral-induced diabetes. J Med Virol 11: 23, 1983.
5. HELMKE, K.; A. OTTEN; W. WILLENIS: Islet cell antibodies in children with mumps infection. Lancet 2: 211, 1980.
6. NISHIYAMA, R. H. ET AL.: The detection of islet cell antibodies by immunofluorescence in Bouin's-fixed, paraffin-embedded human pancreas. Lab Invest 43: 191, 1980.
7. HOLBOROW, E. J. ET AL: Cytoplasmic localization of complement-fixing autoantigen in human thyroid epithelium. Br J Exp Pathol 40: 583, 1959.
8. FULTHORPE, A. J. ET AL.: A stable sheep cell preparation for detecting thyroglobulin autoantibodies and its clinical applications. J Clin Pathol 14: 654, 1961.
9. WYBRAN, J.; H. H. FUDENGERG: Thymus derived rosette forming cells in various diseases states: cancer, lymphoma, bacterial and viral infections and other diseases. J Clin Invest 52: 1026, 1973.
10. NERUP, J. ET AL.: Antipancreatic cellular hypersensitivity in diabetes mellitus. Diabetes 20: 424, 1971.
11. MAUGH, T. H.: Virus isolated from juvenil diabetic. Science 204, 1187, 1979.
12. YOON, J. W. ET AL.: Isolation of a virus from the pancreas of child with diabetic ketoacidosis. N Engl J Med 300: 1173, 1979.

Recibido: 17 de abril de 1989. Aprobado: 31 de mayo de 1989.

Lic. Angel Uriarte. Instituto Nacional de Endocrinología. Calle 29 y Zapata. La Habana 10400.