

## DESARROLLO DE INMUNOENSAYOS FLUORESCENTES PARA LA DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS EN DIABETES MELLITUS AUTOINMUNE

Aldana Trabucchi, Edgardo Poskus, Silvina N. Valdez, Rubén F. Iacono, Silvina S. Bombicino, Adriana V. Sabljic, Juan Ignacio Marfía, Gisela F. Rodas

CÁTEDRA DE INMUNOLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UBA E INSTITUTO DE ESTUDIOS DE LA INMUNIDAD HUMORAL, PROF. RICARDO A. MARGNI (IDEHU), UBA-CONICET, CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

**Introducción:** la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la destrucción selectiva de las células beta pancreáticas, mediada por autoanticuerpos específicos como GADA (anti-glutamato descarboxilasa) y ZnT8A (anti-transportador de zinc 8). La detección temprana de estos autoanticuerpos es clave para identificar individuos en riesgo, y posibilitar intervenciones que prevengan o retrasen la aparición de la enfermedad clínica<sup>1,2</sup>. Sin embargo, los métodos diagnósticos actuales, como los inmunoensayos radiométricos o enzimáticos, presentan limitaciones en sensibilidad, especificidad y requerimientos técnicos, dificultando su implementación en laboratorios de mediana o baja complejidad y en programas de tamizaje poblacional.

**Objetivos:** este proyecto tuvo como objetivo desarrollar inmunoensayos fluorescentes, altamente sensibles y específicos, para la detección simultánea o individual de GADA y ZnT8A.

**Materiales y métodos:** se diseñó y produjo una proteína quimérica (ZnT8/GAD)<sub>3</sub> que combinara epítopes inmunodominantes de ambos autoantígenos, permitiendo su detección conjunta en un único ensayo. Asimismo, se evaluó una variante recombinante del antígeno GAD fusionado a tiorredoxina (TrxGAD)<sup>4</sup>, expresado en *E. coli*. La proteína quimérica fue producida en células de insecto utilizando el sistema Bac-to-Bac® y purificada mediante cromatografía de afinidad con níquel. Su correcta expresión e identidad fueron verificadas por SDS-PAGE y Western blot. En paralelo, se expresó y caracterizó TrxGAD para implementarlo en la detección individual de GADA.

**Resultados:** se desarrolló un inmunoensayo de doble paratope con detección fluorescente, evaluado con 40 muestras de pacientes diabéticos, positivas para uno o ambos marcadores, provenientes del Laboratorio de Inmunoendocrinología (LIE), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. El inmunoensayo mostró una especificidad del 100% (ya que todas las muestras correspondientes a individuos controles se encontraban por debajo del valor de corte arrojando señales negativas) y una sensibilidad superior al 70%. Finalmente, se realizó una comparación entre tres métodos analíticos de determinación de anticuerpos: el método radiométrico de referencia (RBA), un método de fase sólida con revelado enzimático (ELISA) y el método propuesto en este proyecto de investigación: el inmunoensayo con revelado fluorescente (IE fluorescente). Esto demostró que mediante la utilización de la molécula quimérica ZnT8/GAD junto con el ensayo fluorescente se obtienen resultados comparables con los métodos radiométricos de referencia, pero con menor complejidad técnica.

**Conclusiones:** se logró desarrollar un inmunoensayo fluorescente sensible, específico y técnicamente accesible para la detección de autoanticuerpos en DM1. Su implementación podría mejorar significativamente las capacidades de tamizaje y diagnóstico precoz, especialmente en contextos con recursos limitados, contribuyendo a intervenciones preventivas y a una mejor gestión clínica de la enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Orban T, Sosenko JM, Cuthbertson D, Krischer JP, Skyler JS, Jackson R, et al. Pancreatic islet autoantibodies as predictors of type 1 diabetes in the diabetes prevention trial-type 1. *Diabetes Care* 2009;32(12).
2. Elding Larsson H, Vehik K, Gesualdo P, Akolkar B, Hagopian W, Krischer J, et al. Children followed in the TEDDY study are diagnosed with type 1 diabetes at an early stage of disease. *Pediatr Diabetes* 2014;15(2).
3. Trabucchi A, Bombicino SS, Sabljic AV, Marfía JI, Targovnik AM, Iacono RF, Miranda MV, Valdez SN. Development of an immunoassay for the simultaneous detection of GADA and ZnT8A in autoimmune diabetes using a ZnT8/GAD65 chimeric molecule. *Front Immunol* 2023;14:1219857.doi: 10.3389/fimmu.2023.1219857.
4. Papouchado ML, Valdez SN, Ghiringhelli D, Poskus E, Ermacora MR. Expression of properly folded human glutamate decarboxylase 65 as a fusion protein in *Escherichia coli*. *European Journal of Biochemistry* 1997;246:350-9.

---

## EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.

### ESTUDIO MULTICÉNTRICO REALIZADO POR ESPECIALISTAS DE LA ARGENTINA

Solange Houssay, Silvana Milrad, Sandra Maserati, Marina Margossian, Carolina Gómez Martín, Ángela Luongo, Eva López González

GRUPO FRADYC 4, Y COMITÉ DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

**Introducción:** alcanzar la meta glucémica en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) previene y enlentece las complicaciones crónicas, y prolonga la supervivencia.

**Objetivos:** cuantificar el porcentaje de personas con DM2 que logra el objetivo de control glucémico según niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c), y su relación con la adherencia al tratamiento, el tiempo de DM2, el bienestar, las modalidades de tratamiento, las áreas problemáticas en DM y las complicaciones, e identificar las variables relacionadas con el logro de la meta.

**Materiales y métodos:** estudio multicéntrico, descriptivo, observacional, de corte transversal, realizado en 12 centros especializados de la Argentina (CABA, Buenos Aires y Neuquén) en el período 2024-2025. Se investigó, en la práctica habitual, el laboratorio y el tratamiento de la DM2. Se utilizó el cuestionario de adherencia farmacológica de Morisky-Green-Levine, OMS-5 para nivel de bienestar y PAID-5 para áreas problemáticas en la DM; la polifarmacia fue de >4 medicamentos/día.

**Resultados:** se incluyeron 533 personas con DM2; masculinos: 52,5%, edad: 62,7±11, IMC: 31,4±5,6, circunferencia de cintura (CC): 104 cm (hombres) y 102 cm (mujeres), años de DM: 10,8±8, HbA1c: 7,1±1,4%; el 61,7% logró la meta. Hipertensión arterial: 71,6%, dislipidemia: 81,6%, tabaquismo: 8,2%, realizaba actividad física: 36,2%, con enfermedad cardiovascular: 23,3%. Con retinopatía: 11%, nefropatía: 20% y neuropatía: 24%. Sin cobertura de salud: 1,5%, con planes nacionales/provinciales: 14,5%, obras sociales: 34,5%, medicina prepaga: 37,5%, PAMI/incluir salud: 12%.

El medicamento más indicado fue metformina: 83,8%, seguida por iDPP-4: 34,8%, iSGLT-2: 29,5%, gliclazida y glimepirida: 24,6%, AR-GLP1: 6,4%, repaglinida: 0,7%, pioglitazona: 2,2%, con glibenclamida ninguno. Combinaciones en un solo comprimido: 17% y polifarmacia en 69%. Tratados con insulina: 21,8%, siendo la más utilizada la NPH: 42%, seguida de glargina U-100: 37%, degludec: 27%, glargina U-300: 7%, y premezclas de lenta/rápida: 2,2%. Insulina basal combinada con antidiabéticos no insulínicos: 69% y 31% con basal/bolo. Adhería al tratamiento farmacológico el 58,9%, de ellos alcanzó la meta el 64,1%. De los no adherentes, logró la meta el 35,4% (p=0,002). Bajo bienestar 15%, depresión 8,6% y angustia relacionada con la DM (PAID-5 >7) 31,5%.