

ANTICUERPOS ANTI 21 HIDROXILASA SERICOS EN PACIENTES CON
ANTICUERPOS ANTIFRACCION MICROSOMAL
SINDROME POLIENDOCRINO AUTOINMUNE

SILVIA BOTTA, SILVANA ROVETO, DANIEL RIMOLDI

*Departamento de Endocrinología Clínica, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari,
Universidad de Buenos Aires*

Resumen El síndrome poliendocrino autoinmune (SPA) es la asociación de enfermedades endocrinas autoinmunes con otros desórdenes autoinmunes no endocrinos. Los tipos 1, 2 y 4 presentan adrenalitis autoinmune, esto indica la presencia de autoanticuerpos, y su marcador serológico específico es el anti 21 hidroxilasa (a21-OH). El SPA tipo 2 es la asociación de adrenalitis, enfermedad tiroidea y/o diabetes mellitus inducidas por autoanticuerpos. Como componentes menores, pueden estar asociados entre otros, vitiligo, alopecia y miastenia. Nuestros objetivos fueron: establecer la prevalencia de a21-OH séricos en pacientes con anticuerpos anti fracción microsomal (AFM) positivos, enfermedad tiroidea autoinmune y/o afecciones endocrinas y no endocrinas autoinmunes; diagnosticar formas incompletas de SPA y estudiar individuos con probable riesgo de progresión a un SPA completo. Estudiamos 72 pacientes AFM positivos y 60 sujetos tomados como grupo control, AFM negativos. Hallamos a21-OH elevados en dos pacientes: A= 47 U/ml, hipotiroidismo autoinmune y miastenia; y B= 8.75 U/ml, hipotiroidismo autoinmune y vitiligo; ambos con ausencia de insuficiencia adrenal. La prevalencia de a21-OH encontrada fue del 2.8%. Las pacientes A y B corresponden a un SPA tipo 2 incompleto y latente en relación al componente adrenal. Considerando a los a21-OH marcadores de enfermedad autoinmune latente, el eventual riesgo de evolución hacia la afección clínica sugiere la necesidad de estrechos controles clínicos y bioquímicos periódicos.

Palabras clave: autoanticuerpos, síndrome poliendocrino autoinmune, insuficiencia adrenal

Abstract *Seric 21- hydroxylase antibodies in patients with anti-microsomal fraction antibodies. Autoimmune polyendocrine syndrome.* Autoimmune polyendocrine syndrome (APS) is the association of autoimmune endocrine diseases, with other autoimmune nonendocrine disorders. APS types 1, 2 and 4 include autoimmune adrenalitis; this suggests the presence of autoantibodies. A specific serological marker for these is the anti 21- hydroxylase autoantibody (a21-OH). APS type 2 is the association of autoimmune adrenalitis, to autoimmune thyroid disease and/or diabetes mellitus, all these are induced by autoantibodies. Alopecia, vitiligo, myasthenia and other manifestations can be minor components. We sought to establish the prevalence of seric a21-OH in patients with positive anti-microsomal fraction autoantibodies, autoimmune thyroid disease and/or non-endocrine autoimmune diseases. We also aimed to diagnose incomplete forms of APS and to follow up patients at risk of progression to complete forms of APS. A population of 72 patients and another of 60 controls with negative anti-microsomal fraction autoantibodies were studied. Elevated seric a21-OH were found in two patients. Patient A with 47 U/ml had autoimmune hypothyroidism and myasthenia; and patient B with 8.75 U/ml had autoimmune hypothyroidism and vitiligo; they both lacked adrenal insufficiency. Seric a21-OH had a prevalence of 2.8%. Regarding the adrenal component, patients A and B had an incomplete and latent APS type 2. Considering a21-OH as markers of latent endocrine autoimmune diseases and taking into account the eventual risk of developing clinical manifestations, periodic biochemical and clinical follow-ups are recommended.

Key words: autoantibodies, autoimmune polyendocrine syndrome, adrenal insufficiency

La adrenalitis autoinmune es una afección de la glándula suprarrenal, mediada por autoanticuerpos, que resulta en una hipofunción de las células corticales, con déficit de la secreción de cortisol y aldosterona. La enzi-

ma 21 hidroxilasa es específica de la corteza adrenal y de localización citoplasmática. Los anticuerpos anti 21 hidroxilasa (a21-OH) son específicos de adrenalitis autoinmune, y están presentes en el 100% de los casos, al momento del diagnóstico clínico de insuficiencia adrenal. Puede presentarse en forma aislada, o como parte del SPA, que se define como la asociación de enfermedades endocrinas autoinmunes, con otros desórdenes autoinmunes no endocrinos. En el año 1980, Neufeld y Blizzard organizaron y clasificaron este síndrome en cuatro tipos¹.

Recibido: 19-XII-2005

Aceptado: 20-IX-2006

Dirección postal: Dra. Silvia Botta, Instituto de Investigaciones Médicas Lanari, Av. Combatientes de Malvinas 3150, 1427 Buenos Aires, Argentina

e-mail: sbotta@intramed.net

Las enfermedades autoinmunes consideradas como componentes mayores del SPA son: hipoparatiroidismo, adrenalitis, enfermedad tiroidea, diabetes mellitus y candidiasis crónica. Los componentes menores pueden ser endocrinos: ooforitis autoinmune, hipofisitis; y no endocrinos: vitiligo, alopecia universal, hepatitis crónica autoinmune, cirrosis biliar primaria, miastenia gravis, lupus eritematoso sistémico, anemia perniciosa, enfermedad celíaca, síndrome de Sjögren, y otros. SPA tipo 1 es la asociación entre los componentes mayores: candidiasis crónica, hipoparatiroidismo y adrenalitis autoinmune; en el tipo 2 se asocian endocrinopatías autoinmunes como: adrenalitis, enfermedad tiroidea y/o diabetes mellitus; en el tipo 3 afección tiroidea con una o más enfermedades autoinmunes, excluyendo los componentes mayores del tipo 1; y en el tipo 4 adrenalitis con una o más afecciones autoinmunes que excluyan a los componentes mayores del tipo 1 y 2. Los componentes menores del SPA pueden preceder, aparecer simultáneamente o hacerlo muchos años después (hasta 10) de los componentes mayores².

Las formas clínicas del SPA pueden ser completas o incompletas. Las primeras son aquellas en las que los componentes mayores están en toda su expresión clínica; las incompletas pueden ser subclínicas y latentes. En las subclínicas uno de los componentes mayores está clínicamente presente y uno o más de los restantes mayores se encuentran sólo con expresión bioquímica (prueba de reserva adrenal insuficiente para la adrenalitis autoinmune subclínica, o TSH elevada con T4 libre normal para tiroiditis subclínica). Las latentes son aquellas en las que un componente mayor está clínica y bioquímicamente presente, asociado solamente a serología positiva para autoanticuerpos correspondientes a uno o más componentes mayores.

La adrenalitis autoinmune y el desarrollo de insuficiencia adrenal son consecuencia del daño que resulta de la infiltración de linfocitos T y la liberación de citoquinas que lleva a la destrucción celular progresiva, con necrosis y fibrosis posterior. Las enfermedades autoinmunes resultan de la pérdida de tolerancia inmunológica, a partir de un determinante genético dado, ya sea por mutaciones génicas específicas, relacionado al complejo mayor de histocompatibilidad, en el que distintos fenotipos HLA estarían involucrados³.

Nuestros objetivos fueron: a. Establecer la prevalencia de a21-OH séricos en pacientes con anticuerpos anti fracción microsomal (AFM) positivos⁴, afección tiroidea autoinmune y/o otras enfermedades autoinmunes endocrinas y no endocrinas; b. Diagnosticar formas incompletas de SPA subclínicas y latentes; c. Comparar las concentraciones de a21-OH menor a 1 U/ml de la población estudiada con un grupo control AFM negativos. d; Observar individuos con probable riesgo de progresión a un SPA propiamente dicho.

Materiales y métodos

Analizamos 72 pacientes de 18 a 75 años (71 mujeres y 1 hombre); edad media \pm desvío estándar (DE) = 46 ± 14 con AFM positivos: títulos mayores a 1/100; autoinmunidad tiroidea asociada a otras enfermedades. La población estudiada la dividimos en tres grupos: 51/72 hipotiroideos (2 vitiligos, 1 miastenia gravis y 1 alopecia universal), 11/72 hipertiroideos (1 vitiligo, 1 lupus eritematoso sistémico, 1 polimiositis y 1 alopecia universal) y 10 /72 eutiroideos (1 alopecia universal y 1 lupus eritematoso sistémico). El grupo control seleccionado estaba formado por 60 sujetos sanos de 21 a 69 años sin enfermedad endocrina (59 mujeres y 1 hombre), edad media \pm DE = 41 ± 14 con AFM negativos.

Para cuantificar los anticuerpos a21-OH séricos se utilizó un inmunoensayo isotópico no competitivo de RSR, y como trazador, enzima 21 hidroxilasa recombinante humana marcada con ¹²⁵Iodo. El procedimiento se basa en una incubación (a 4 °C) de las muestras y posterior separación del complejo antígeno-anticuerpo formado mediante precipitación con proteína A en frío. El precipitado radioactivo fue leído y los datos procesados en un contador gamma automático COBRA II (Packard). Valor de referencia sugerido hasta 1 U/ml. Sensibilidad analítica: 0.03 U/ml.

Para AFM se utilizó un ensayo basado en la aglutinación de partículas de gelatina sensibilizadas con antígeno microsomal, extraído y purificado de tejido tiroideo humano SERODIA-AMC. El suero que contiene anticuerpos específicos reacciona con las partículas sensibilizadas para formar un tapiz rojo liso en la placa de microtitulación. Valor de referencia para AFM: hasta 1/100. Analizamos en cada ensayo 3 controles internos: un control positivo comercial de título 1/1600, más un suero humano reactivo (positivo) previamente titulado (1/6 400) y otro no reactivo (negativo), ambos congelados en alícuotas. Para descartar las uniones inespecíficas de cada ensayo utilizamos partículas sin sensibilizar. Además titulamos un control externo, que corresponde al Programa de Control de Calidad Inter-laboratorios.

El protocolo de investigación fue autorizado por el Comité de Docencia e Investigación del Instituto Lanari, y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado. El análisis estadístico utilizado fue el test de Mann-Whitney.

Resultados

Hallamos dos pacientes (2/72) mujeres (A y B) con SPA tipo 2. Las concentraciones de a21-OH fueron: A = 47 U/ml (hipotiroidea y miastenia) con AFM 1/1600, edad 57 años y B = 8.75 U/ml (hipotiroidea y vitiligo) con AFM mayor a 1/6400 y 47 años de edad. Se estudiaron las reservas adrenales de A y B mediante pruebas funcionales de estímulo con ACTH (25 UI, endovenoso) dosando cortisol sérico a los 0; 30 y 60 minutos. Los valores de cortisol (μ g/dl) obtenidos fueron para paciente A= 10; 32 y 36 y B= 20.5; 30 y 36, ambas respuestas normales. Los niveles de aldosterona (pg/ml) séricos en reposo fueron para A = 29.5 y B= 83; ambos valores normales con respecto a nuestro intervalo de referencia.

La prevalencia de a21-OH elevados en el grupo de pacientes con AFM positivo y enfermedad autoinmune no adrenal fue del 2.8%. Las pacientes A y B corresponden a un SPA tipo 2 incompleto y latente en relación al componente adrenal.

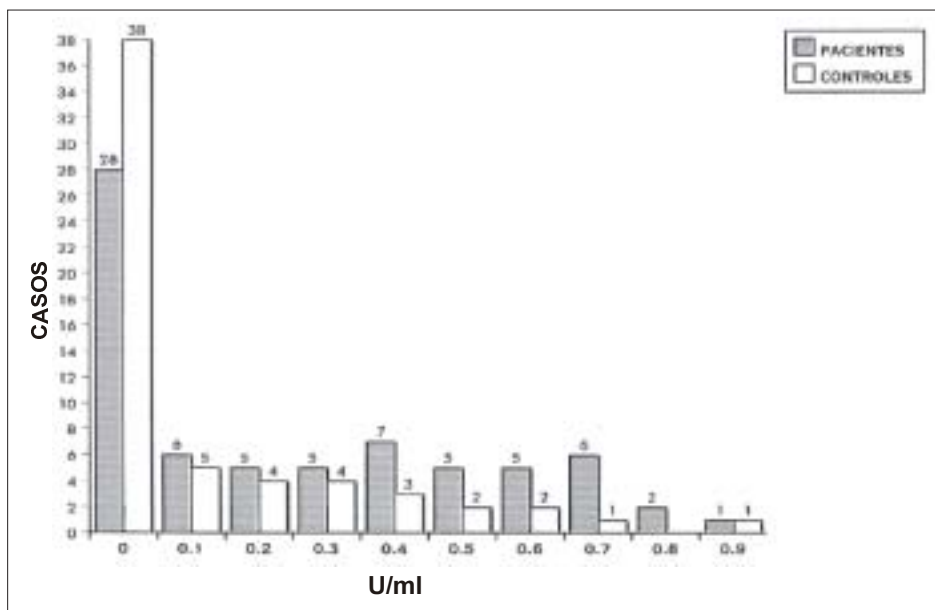


Fig. 1.- Distribución de los niveles de anticuerpos anti 21 hidroxilasa menores a 1 U/ml en 70 pacientes y controles.
 Media ± DE: Pacientes=0.26±0.27 y Controles= 0.12 ± 0.21. Mediana: Pacientes=0.2 y Controles= 0. Pacientes vs. Controles p= 0.004.

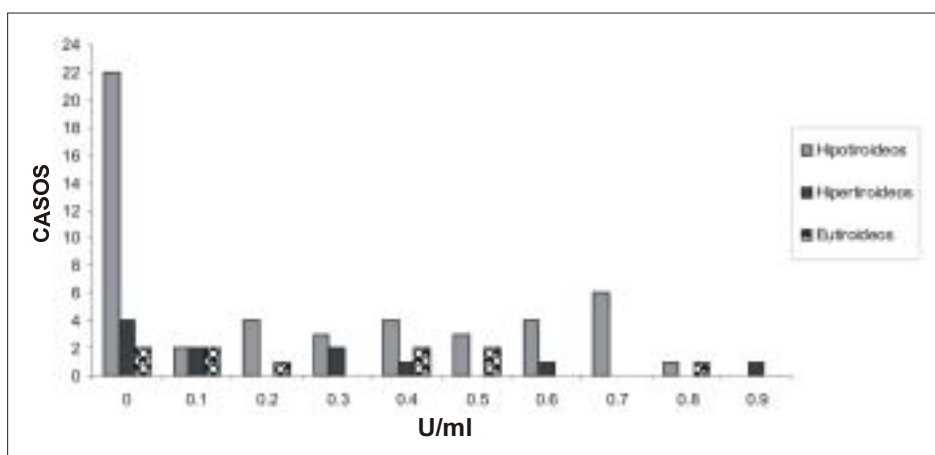


Fig. 2.- Estado tiroideo de los 70 pacientes para cada nivel de a21-OH entre 0 y 1 U/ml

Al comparar las concentraciones obtenidas de a21-OH menores a 1 U/ml en los 70 pacientes restantes (AFM positivos) versus el grupo control (AFM negativos) observamos diferencias significativas; media±DE: 0.26 ± 0.27 vs. 0.12 ± 0.21 respectivamente; p= 0.004 (Fig. 1). Estos resultados demuestran que en este subgrupo de 70 pacientes con valores menores a 1U/ml, éstos son significativamente superiores a los del grupo control. En la Fig. 2 representamos el número de pacientes hallados según sus estados tiroideos (hipo-hiper y eutiroideo) para cada nivel de a21-OH obtenido, entre 0 y 1 U/ml, en los 70 pacientes restantes.

Discusión

Entre los diferentes tipos de SPA, el tipo 2 es el más frecuente. Las formas incompletas del síndrome tienen una prevalencia 30 veces mayor a la de las formas completas⁵.

En SPA incompletos, se debe investigar la expresión subclínica de otros componentes a través de determinaciones bioquímicas. En el caso de nuestras pacientes A y B con hipotiroidismo autoinmune más a21-OH elevados, les realizamos una prueba de estimulación rápida con ACTH, obteniendo respuestas normales, no

evidenciando aún insuficiencia adrenal. Es importante tener en cuenta que en la evolución natural de la adrenalinosis autoinmune, existen diferentes estadios clínicos de hipoadrenalismo; desde el estadio inicial, aquel en donde sólo está presente el a21-OH, hasta llegar al estadio avanzado con signos y síntomas claros de insuficiencia adrenal. En el SPA incompleto, es muy importante el seguimiento clínico y bioquímico de los pacientes, teniendo en cuenta que la secuencia de aparición de cada uno de los componentes del síndrome es variable. La sola presencia de un anticuerpo específico correspondiente a alguno de los componentes mayores de un SPA, puede ser el inicio de una afección autoinmune múltiple. Cada vez que se establece el diagnóstico de una enfermedad autoinmune relacionada a un componente mayor de SPA, se debería pesquisar la presencia de otros autoanticuerpos y en caso de ser positivos, se deberán agregar pruebas funcionales orientadas al diagnóstico de formas subclínicas correspondientes a otras afecciones endocrinas asociadas, y así diagnosticar un SPA.

Identificar a los pacientes en riesgo de SPA, y a aquellos con SPA incompleto, evitaría la aparición de insuficiencias endocrinas agudas que pudieran conducir a la muerte⁶. Los pacientes en riesgo de padecer SPA en general son aquellos: a) portadores de autoanticuerpos correspondientes a un componente mayor; b) pacientes con una enfermedad autoinmune endocrina o no endocrina correspondiente a un componente mayor o menor de SPA, c) pacientes con antecedentes familiares de afecciones autoinmunes; d) con títulos elevados de autoanticuerpos; e) con fenotipos HLA de los asociados a SPA, y f) pacientes jóvenes o niños con cualquiera de los factores anteriores. Las formas incompletas y latentes de SPA para el componente adrenal, como es el caso de nuestras pacientes, pueden o no evolucionar a la insuficiencia adrenal clínica, por lo que la presencia del a21-OH puede ser sólo indicadora de otras enfermedades autoinmunes asociadas, eventualmente a corto o largo plazo. El riesgo de progresión a insuficiencia adrenal clínica en pacientes con SPA tipo 2, incompleto y latente, está en relación directa con los incrementos de las concentraciones de a21-OH, con los antecedentes familiares de autoinmunidad, con la edad y con el número de enfermedades autoinmunes endocrinas y no en-

docrinas. Se estima que el índice de progresión a estadio clínico de una adrenalinosis autoinmune latente, con dos o más afecciones autoinmunes asociadas, es de alrededor del 35% a los 10 años. La prevalencia de a21-OH elevados en nuestros pacientes estudiados con endocrinopatía autoinmune no adrenal fue del 2.8%. Puede ser mayor, hasta un 5%, cuanto más enfermedades autoinmunes se asocian⁷.

La diferencia significativa obtenida, analizando los resultados de los 70 pacientes restantes con concentraciones de a21-OH menores a 1 U/ml comparados con el grupo control, nos indica la probable evolución hacia un SPA incompleto o completo en el futuro. Sobre la base de lo expuesto anteriormente, estos individuos deberían someterse a un seguimiento clínico y bioquímico, detectando posibles incrementos en las concentraciones de a21-OH, observando la aparición de signos y/o síntomas clínicos de otras afecciones autoinmunes, componentes también de un SPA.

Consideramos que el a21-OH es un marcador de autoinmunidad, ya sea de adrenalinosis autoinmune y/o de enfermedades asociadas autoinmunes endocrinas latentes, que podrían evolucionar a un SPA, especialmente si estuvieran presentes otros autoanticuerpos relacionados.

Referencias

1. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R. Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocrine Rev* 2002; 23: 327-64.
2. Ten S, New M, Maclaren N. Clinical Review 130, Addison's disease. *J Clin Endocrinol* 2001; 86: 7: 2909-21.
3. Eisenbarth G, Gottlieb P. Autoimmune polyendocrine syndromes. *N Engl J Med* 2004; 350: 20: 2068-78.
4. Fiezzoni K, Galarza P, Roveto S, Rimoldi D. Anticuerpos anti fracción microsomal, su contribución al diagnóstico de autoinmunidad tiroidea. *Bioquímica y Patología Clínica* 2003; 50-2.
5. Betterle C, Lazzarotto F, Presotto F. Autoimmune polyglandular syndrome type 2: the tip of an iceberg. *Clin & Exp Imm* 2004; 137: 225-33.
6. Arit W, Alloio B. Adrenal insufficiency. *Lancet* 2003; 361: 1881-93
7. Falorni A, Laureti S, Santeusiano F. Autoantibodies in autoimmune polyendocrine syndrome type II. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2002;31: 369-89.

It is not easy to convey, unless one has experienced it, the dramatic feeling of sudden enlightenment that floods the mind when the right idea finally clinches into place.

No es fácil expresar, a menos que uno lo haya vivido, el sentimiento dramático de una luz que inunda la mente cuando la idea exacta finalmente encaja en el lugar preciso.