



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO
PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**DETERMINACION DE NIVELES DE ANTICUERPOS ANTIRRECEPTOR
DE TSH Y
ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA IgG E IgM
EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO LABORATORIAL
Y CLÍNICO DE HIPERTIROIDISMO**

Trabajo de Grado presentado a la Universidad de Carabobo por: Martínez
Francys, Valera Damarys y Vivas Irania, como requisito, para optar al
Título de Licenciado en Bioanálisis

VALENCIA, NOVIEMBRE 2004.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO
PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**DETERMINACIÓN DE NIVELES DE ANTICUERPOS ANTIRRECEPTOR
DE TSH Y
ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA IgG E IgM
EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO LABORATORIAL
Y CLÍNICO DE HIPERTIROIDISMO**

Autores:
Martínez Francys
Valera Damarys
Vivas Irania
Tutor: Lic. Julio Cesar González
Asesor metodológico: Amarily Perelli

VALENCIA, NOVIEMBRE, 2004

CONSTANCIA DE CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.

Yo, Julio Cesar González Martínez, por medio de la presente certifico que he tenido conocimiento del trabajo de investigación que lleva por título "**Determinación de niveles de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina en pacientes con diagnóstico laboratorial y clínico de hipertiroidismo**", desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por las Bachilleres: Martínez Francys, Valera Damarys y Vivas Irania. Considero que el presente estudio reúne los requisitos necesarios para ser sometido a evaluación.

Firma del tutor





UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

INSTRUCTIVO PARA EVALUAR EL CUARTO LAPSO

Título del Trabajo:

DETERMINAR VALORES DE ANTICUERPOS ANTIRRECEPTORES DE TSH Y ANTICUERPOS ANTICARBOIDOLIPINA EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO LABORATORIAL Y CLINICO DE HIPERTIROIDISMO

La calificación obtenida en la presentación y defensa del Trabajo fue:

Estudiante	P. Escrita (35%)	Diseño de la P. (10%)	P. Oral (25%)	Defensa y Discusión (30%)	Total
Br. MARTINEZ FRANCYS	18	20	19	19	19
Br. VALERA DAMIRIS	18	20	19	19	19
Br. VIVAS IRONIA	18	20	19	19	19
Br.					

AMBRILY PERELLI Nombre:	Rosalia Hatueli Ramirez A. Nombre:	Liliana E Castro G Nombre:
CI: 3665286	CI: 9.970.077	CI: 6.882.353
 Firma	 Firma	 Firma

Valencia 18 de 11 de 2004

Instrumento Diseñado por las Profesoras Rosalina González y Junedy Marcano

DEDICATORIA

- A Dios Todopoderoso por darnos la vida, la oportunidad de estar aquí y la fortaleza necesaria para alcanzar nuestras metas.
- A nuestros Padres por estar siempre a nuestro lado, dándonos ánimo y apoyo en todo momento. Los Amamos...
- A nuestras familias por su fiel apoyo, compartiendo nuestro sendero.
- A nuestro amigo Germán Ferreira por su digno ejemplo a seguir, inspirándonos y apoyándonos durante toda nuestra carrera.
- A Deivy y Pedro nuestros compañeros en días tristes y alegres, por brindarnos palabras de aliento y celebrar nuestros triunfos.
- A mi hijo Miguel Angel por ser la alegría de mi vida.
- A todos nuestros amigos y compañeros que de forma directa e indirecta hicieron que éste camino fuese más fácil y agradable.

RECONOCIMIENTOS

- Al Lic. Julio C. González M. Por ser nuestro tutor, guía y amigo, por su infinita colaboración y por inspirarnos a crecer cada día más humana y profesionalmente.
- A la profesora Amarilys Perelli nuestra asesora metodológica por su colaboración.
- Al laboratorio de referencia González Martínez especialmente a la Lic. Dora González por su valiosa ayuda.
- A la Sra. Arelys Bolivar Maluenga por hacer de su casa nuestro hogar.
- A la familia Maluenga por su apoyo en nuestro recorrido.

INDICE

	Página
Índice de Tablas	viii
Resumen	ix
INTRODUCCION	1-
Objetivo General	9
Objetivos Específicos	9
METODOLOGIA	10
Tipo Investigación	10
Población y Muestra	10
Procedimiento Metodológico	10
Análisis de los Datos	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
CONCLUSIONES	25
BIBLIOGRAFIA	27

INDICE DE TABLAS

Número de la tabla	Descripción	Página
1	Distribución de la muestra de acuerdo a la edad de pacientes hipertiroideos. Valencia, 2004.	17
2	Distribución estadística de las variables estudiadas en pacientes hipertiroideos. Valencia 2004.	18
3	Distribución de valores estadísticos de variables en el grupo de pacientes hipertiroideos con niveles normales de anticuerpos antirreceptor de TSH. Valencia, 2004.	18
4	Descripción de valores estadísticos de variables en pacientes hipertiroideos con niveles aumentados de anticuerpos antirreceptor de TSH. Valencia, 2004.	21
5	Distribución porcentual de pacientes con niveles aumentados de anticuerpos. Valencia, 2004.	21
6	Matriz de correlación de Pearson de hormonas tiroideas, anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina IgM e IgG en pacientes con hipertiroidismo. Valencia, 2004.	22
7	Matriz de correlación de Pearson de hormonas tiroideas, anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina IgM e IgG en pacientes con hipertiroidismo. Valencia, 2004.	23

RESUMEN

DETERMINACIÓN DE NIVELES DE ANTICUERPOS ANTIRRECEPTOR DE TSH Y ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA IgG E IgM EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO LABORATORIAL Y CLÍNICO DE HIPERTIROIDISMO.

Autores: Martínez Francys, Valera Damarys y Vivas Irania.

Tutores: Lic. Julio C. González.

Asesor: Prof. Amarily Perelli.

Realizado en Laboratorio de Referencia Gonzáles Martínez y Financiado por CDCH.

El hipertiroidismo es el resultado de un exceso de la función tiroidea, esto ocasiona que la T₃ Libre y T₄ Libre se encuentren en niveles elevados aunque la TSH este disminuida. La causa más frecuente de hipertiroidismo es la enfermedad de Graves o Bocio Exoftálmico. El hipertiroidismo afecta a personas de cualquier edad y género, sin embargo, la mayoría de los pacientes son mujeres entre 30 y 50 años. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM en pacientes con diagnóstico laboratorio y clínico de hipertiroidismo. Se estudiaron 84 pacientes en edades comprendidas entre 18 y 70 años, de los cuales solo 8 fueron del género masculino. Se realizaron las determinaciones de TSH, T₃ Libre y T₄ Libre por quimioluminiscencia, anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM por el método de ELISA. El 64,3% de los pacientes presentaron niveles de anticuerpos antirreceptor de TSH elevados. Los anticuerpos anticardiolipina IgM se encontraron presentes en 18 pacientes (21%) y el isotipo IgG en 24 pacientes (29%). No hubo una correlación significativa entre la presencia de ambos anticuerpos y la edad o género del paciente. Los pacientes con valores aumentados de anticuerpos antirreceptor de TSH presentaron los niveles de anticuerpos anticardiolipina más elevados en comparación con el grupo de pacientes cuyos valores de anticuerpos antirreceptor de TSH fueron normales. Se observó que en los pacientes que presentan anticuerpos antirreceptor de TSH es más notorio el aumento de las hormonas tiroideas. Se concluye que los anticuerpos anticardiolipina no tienen una relación directa con hipertiroidismo de etiología autoinmune.

Palabra clave: Hipertiroidismo, Antirreceptor de TSH, Anticuerpos Anticardiolipina.

INTRODUCCIÓN

La glándula tiroides existe en todos los vertebrados y mantiene en los tejidos el nivel metabólico óptimo para su normal funcionamiento. No es esencial para la vida, pero su ausencia origina un retardo físico y mental, resistencia deficiente al frío; por otra parte el exceso de secreción tiroidea conduce a un desgaste orgánico, nerviosismo, taquicardia, temblores y producción excesiva de calor (Ganong, 1999).

Su secreción está controlada por la hormona estimulante de la tiroides (TSH, Tirotropina) de la apófisis anterior, la secreción de la misma a su vez es regulada por la hormona liberadora de Tirotropina (TRH) de origen hipotalámico y también por la inhibición, por retroalimentación, que ejercen las hormonas tiroideas sobre la hipófisis (Montgomery, 1999).

Las principales hormonas que secreta la glándula tiroidea son la Tiroxina (T_4) y la Triyodotironina (T_3), ésta última también se forma en los tejidos por desyodación de T_4 . Ambas hormonas son aminoácidos yodados, esenciales para el crecimiento, la maduración normal del individuo, la síntesis proteica y el incremento de los requerimientos de vitaminas (Corona, 1999).

Estas hormonas circulan en sangre, presentándose en el plasma en dos fracciones equilibradas, una fracción libre, que es la fisiológicamente activa y que inhibe o retroalimenta la secreción hipofisaria de la TSH y otra fracción unida a proteínas plasmáticas, principalmente a globulina fijadora de Tiroxina (TBG), y a otras como la prealbúmina fijadora de las hormonas tiroideas (TBPA) o Transtiretina (TTR) y la albúmina (Ganong, 1999).

La Tiroxina (T_4) y la Triyodotironina (T_3) se unen a receptores nucleares presentes en todas las células del organismo. Una vez que estas hormonas interactúan con su receptor en el núcleo, actúan sobre distintos componentes, produciendo diversos efectos: en la membrana induce el aumento de transporte iónico, transporte de glucosa y aminoácidos; en el citoplasma aumentan las síntesis de proteínas; en el núcleo aumentan la síntesis de ARNm; en las mitocondrias hay alteración de la fosforilación oxidativa para producir mayor consumo de oxígeno y esto genera calor (Salve, 2001).

Es importante señalar que existen sustancias o compuestos químicos que alteran la función tiroidea, suprimiendo la síntesis de T_3 y T_4 , causando a su vez un incremento de los niveles de TSH y un aumento del tamaño hiperplásico (Bocio) de la glándula. Las más importantes son utilizadas en el tratamiento del Hipertiroidismo (el cual se trata disminuyendo la síntesis de hormonas tiroideas, administrando anti-tiroideos o reduciendo la cantidad de tejido tiroideo mediante yodo radiactivo (I^{131}) o Tiroidectomía subtotal). El Litio tiene efectos similares al yodo, pero sus concentraciones terapéuticas se acercan a las tóxicas (Harrison, 2002).

Los principales anti-tiroideos son las Tionamidas como propiltiouracilo (inhibe desyodación de T_3 y T_4), el Carbamisol y su metabolismo activo el Metamisol, ellos inhiben la función de la TPO reduciendo la oxidación y la organificación del yoduro, también reducen los niveles de anticuerpos anti-tiroideos, por mecanismos que aún no se conocen con exactitud y que parecen potenciar las tasas de remisión.

Las afecciones de la glándula Tiroides que producen alteraciones en los niveles de las hormonas tiroideas se manifiestan en diversos síndromes clínicos. Entre estos se pueden mencionar el Hipotiroidismo y el Hipertiroidismo que pueden ser primarios cuando la causa se origina en la glándula y secundarios cuando se origina en la Hipófisis o en el Hipotálamo.

El Hipotiroidismo se refiere clásicamente a un aporte inadecuado de hormonas tiroideas activas a los tejidos periféricos, por disminución en la producción de hormonas dentro de la glándula tiroidea mientras que el hipertiroidismo se define como el conjunto de manifestaciones clínicas y bioquímicas que tienen lugar tras la exposición y respuesta de los tejidos al aporte excesivo de hormonas tiroideas (Cienfuegos, 2000).

Entre las manifestaciones clínicas de hipotiroidismo, con independencia de la causa comprenden: fatiga, somnolencia extrema (12 a 14 horas de sueño), lentitud muscular desmesurada, disminución de la frecuencia cardíaca, menor gasto cardíaco, reducción del volumen sanguíneo, aumento del peso corporal, estreñimiento, lentitud mental, en ocasiones disminución del crecimiento del cabello y descamación cutánea, voz ronca, carraspera, entre otros (Guyton, 2001).

Las causas más frecuentes del Hipotiroidismo son: el déficit de yodo (principal causa a nivel mundial, causas iatrogénicas como el tratamiento del Hipertiroidismo y la Tiroidectomía subtotal excesiva. También puede ser el resultado final de varias enfermedades de la glándula tiroides, o ser secundario a una insuficiencia hipofisiaria, Hipotiroidismo Hipofisiario, o a una insuficiencia hipotalámica, Hipotiroidismo hipotalámico (Guyton, 2001).

A diferencia del hipotiroidismo, el hipertiroidismo es el resultado de un exceso en la función tiroidea, esto ocasiona que la T_3 y la T_4 se encuentren en niveles elevados aunque la TSH este disminuida. Afecta a personas de cualquier edad y género, sin embargo la mayoría de los pacientes son mujeres de 30 a 50 años, esta afección tiroidea se caracteriza por nerviosismo, pérdida de peso, intolerancia al calor, aumento en la presión del pulso, temblor frío con los dedos extendidos, piel caliente y suave, sudación, debilidad muscular, fatiga extrema e incapacidad para conciliar el sueño. Además casi todas las personas con hipertiroidismo sufren cierto grado de prominencia de los globos oculares, conocido como exoftalmos (Ganong, 1999).

En el hipertiroidismo a pesar de que la concentración plasmática de la TSH no es elevada, la glándula tiroidea experimenta cambios semejantes a los provocados por el exceso de la misma. Por otra parte casi siempre se detectan en la sangre otras sustancias que ejercen acciones similares a las de la TSH, se trata de anticuerpos que se unen a los mismos receptores que la TSH. Estos anticuerpos conducen a una activación continua del sistema de AMPc de las células y tienen un efecto estimulante prolongado sobre la glándula tiroidea que dura hasta 12 horas y contrasta con la brevedad de la acción de la TSH, de 1 hora (Guyton, 1997).

La Enfermedad de Graves-Basedow es la causa mas frecuente de Hipertiroidismo, se trata de una afección autoinmunitaria en la cual se desarrollan anticuerpos dirigidos contra receptores para TSH en las células foliculares, de igual manera se observan altos niveles de anticuerpos anticromosómicos y antitiroglobulínicos (Anderson, 1995).

La alteración inmunitaria que se produce en la Enfermedad de Graves (EG) conduce a la aparición de los anticuerpos denominados Inmunoglobulinas estimulantes del tiroides (TSIG) o Inmunoglobulinas tiroestimulantes (TSI). Estos anticuerpos son capaces de unirse a los receptores de TSH y estimular la adenilciclase, en consecuencia, se induce la producción de hormonas tiroideas y el crecimiento de la glándula tiroides, pero la hormona producida no es capaz de suprimir la producción de TSI, es decir, no existe retroalimentación negativa (Montgomery, 1999).

Siguiendo este orden de ideas, es importante señalar que las alteraciones secundarias al proceso de autoinmunidad pueden deberse a la infiltración tiroidea por células inflamatorias e inmunes, con o sin destrucción tiroidea, o a la actuación de anticuerpos sobre proteínas de membrana específicas, fundamentalmente sobre el receptor de TSH (Guyton, 2001).

Se han identificado tres tipos de anticuerpos: Los dirigidos frente al receptor de TSH, los dirigidos frente al antígeno microsomal peroxidasa tiroidea y los dirigidos frente a tiroglobulina, empleados como marcadores de enfermedad tiroidea autoinmune, aún cuando su diagnóstico diferencial pueda requerir otras exploraciones complementarias (Ganong, 1999).

Existen otros anticuerpos que han sido relacionados recientemente con enfermedades autoinmunes tiroideas, aunque no se ha determinado con claridad su implicación en estos procesos, se han encontrado en pacientes con hipertiroidismo. Se trata de los anticuerpos antifosfolípidos, específicamente los anticuerpos anticardioplipina (aCL).

Existen controversias entre investigadores, acerca de la metodología utilizada, del número de pacientes estudiados y de la utilidad del hallazgo de estos anticuerpos como información valiosa en el diagnóstico y/o pronóstico de estas enfermedades.

Los anticuerpos antifosfolípidos (AAF) constituyen una familia de inmunoglobulinas de clase IgG, IgM e IgA con diferente actividad antigénica, los cuales reaccionan frente a los fosfolípidos, estos son moléculas localizadas en la membrana celular en forma de dos capas paralelas de las que depende la estabilidad de la citada estructura. Debe señalarse que la unión de los anticuerpos aCL a su antígeno (cardiolipina) depende de la presencia de un cofactor plasmático llamado B2-gluco proteina I. Existen dos poblaciones de aCL, los dependientes del cofactor, relacionados a manifestaciones clínicas de síndrome antifosfolípidos (SAF) y los no dependientes del cofactor, no relacionados a dichas manifestaciones (Díaz, 2000).

Entre los AAF más conocidos se encuentran:

- Los responsables de la serología lútea falsamente positiva.
- Los Anicuerpos con actividad anticoagulante lúpico.
- Los anticuerpos anticardiolipina (aCL).

En relación a este punto en un estudio realizado por Paggi y col, (1994) se encontró niveles incrementados de aCL en pacientes con Tiroiditis Silente y Tiroiditis de Hashimoto, así como también en pacientes con EG, concluyen que sus resultados confirman una incrementada evidencia de aCL en pacientes afectados con enfermedades tiroideas autoinmunes. "Aunque más de la mitad de nuestros pacientes (17/31) fueron positivos para aCL, IgG y/o IgM, estos anticuerpos pueden representar simplemente un mercado no específico de disregulación inmune" (333).

Es conveniente resaltar la importancia de dichas investigaciones y que las enfermedades autoinmunes tiroideas, especialmente las que cursan con hipertiroidismo, son consecuencias de la acción de autoanticuerpos que van dirigidos hacia el tejido de la glándula y es de gran importancia identificarlos.

Los anticuerpos más utilizados como medios diagnósticos son los anticuerpos antitiroglobulinas y los anticuerpos antirreceptor de TSH, siendo este último recientemente usado como marcador puesto que ha sido demostrada la presencia de epítopes del receptor que, tras la unión al anticuerpo, son capaces de inhibir, estimular o modificar la función de la glándula tiroidea justificando así diversas situaciones funcionales (Guyton, 2001).

Por otra la parte la prevalencia de hipertiroidismo en la población en general es del 3,9% en mujeres y del 0,2% en hombres. La incidencia en mujeres se ha estimado en 0,8 casos /1000 personas / año, siendo este dato insignificante en varones. La EG es la forma más frecuente de hipertiroidismo, suponiendo un 70% de los casos (Cienfuegos, 2000).

Es necesario estudiar la incidencia de estos anticuerpos pues las determinaciones poseen valor diagnóstico ya que los títulos de anticuerpos se relacionan con la presencia de focos de infiltración linfocítica del tiroides y las pruebas encontradas positivas en una población normal probablemente sean el reflejo de algún grado de tiroiditis crónica.

Por lo antes expuesto es importante la determinación de la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos aCL en pacientes con diagnóstico laboratorial y clínico de hipertiroidismo y relacionar la presencia de éstos con la incidencia de enfermedad.

Esto permitirá conocer la frecuencia de los anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos aCL en pacientes con hipertiroidismo para así de esta manera, determinar su utilidad en el diagnóstico, pronóstico y posible tratamiento de la enfermedad.

OBJETIVO GENERAL

Determinar niveles de anticuerpos antirreceptor de TSH Y anticuerpos anticardiolipina en pacientes con diagnóstico laboratorial y clínico de hipertiroidismo, que acuden al Laboratorio Clínico de Referencia González Martínez. Valencia, Estado Carabobo. Periodo 2004.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar los valores séricos de TSH, T3 libre y T4 libre en los pacientes que acuden al Laboratorio Clínico de Referencia González Martínez. Valencia, Estado Carabobo. Periodo 2004.
- Determinar la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos aCL IgG e IgM en los pacientes estudiados.
- Determinar la frecuencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos aCL IgG e IgM en los pacientes estudiados.
- Relacionar la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM con la edad y el género.
- Relacionar la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y la presencia anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM en los pacientes estudiados.
- Relacionar la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y el aumento de las hormonas tiroideas.

METODOLOGIA

TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación es de tipo descriptivo, de corte transversal.

POBLACIÓN Y MUESTRA

Estuvo conformada por un grupo de pacientes mayores de 18 años de ambos sexos con diagnóstico clínico y laboratorio de hipertiroidismo con TSH menor de 0,25 μ UI/mL, T₃ Libre mayor de 3,5 pg/mL, y T₄ Libre mayor de 1,8 ng/dL correspondiente con el cuadro clínico de hipertiroidismo.

PROCEDIMIENTO METODOLOGICO

Se evaluaron aquellos pacientes con diagnóstico laboratorio y clínico de hipertiroidismo con tratamiento que acudieron a realizarse las pruebas de hormonas tiroideas al laboratorio de referencia González Martínez de la ciudad de Valencia, Estado Carabobo. A estos pacientes se les informó del estudio y se les solicitó su participación. Se efectuó la toma de muestra de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Bajo condiciones de ayuno mediante jeringa desechable se tomó una muestra de sangre venosa de 10cc, se centrifugó a 2.500 r.p.m por 10 minutos para la obtención del suero, la cual fue dividida en 2 alícuotas de 3cc.
- Una alícuota de la muestra se utilizó para la determinación de TSH, T₃ Libre, T₄ Libre y la otra alícuota para la determinación de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina en un tubo

debidamente rotulado con nombre y código del paciente y congelado a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento.

PRUEBAS DE LABORATORIO

TSH

El ensayo de TSH incorpora tres anticuerpos monoclonales con alta afinidad y especificidad por la hormona. Los tres anticuerpos, son específicos para un epítipo diferente en la molécula de TSH, ligándose sin competición o interferencia estérica del uno con el otro, y forman un complejo soluble en forma de sandwich. Uno de los anticuerpos monoclonales está marcado con una sustancia quimioluminiscente mientras que los otros dos son acoplados a la biotina. Método NICHOLS INSTITUTE DIAGNOSTICS.

Valores Referenciales: $0,25 - 5\ \mu\text{UI/mL}$

En el ensayo los estándares controles o muestras pacientes son incubadas con una solución que contiene el anticuerpo quimioluminiscente y los anticuerpos emparejados con biotina, junto con una perla plastica recubierta de avidina. Al final de la incubación la perla es lavada para remover componentes no ligados, y los ligados quimioluminiscentes a la fase solida son medidos en un luminómetro. La quimioluminiscencia del complejo ligado a la avidina es directamente proporcional a la cantidad de TSH en la muestra.

Determinación de T_3 Libre

Esta prueba utiliza ésteres de acridina quimioluminiscentes como marcador en el inmunoensayo de quimioluminiscencia. Este ensayo es de tipo inhibición competitiva, utiliza T_3 marcada con un éster de acridina, anticuerpos monoclonales de ratón a la T_3 y un anticuerpo antirratón de

carnero inmovilizado en una perla de poliestireno. Es un ensayo competitivo, la cantidad ligada de analito marcado para anticuerpo inmovilizado es indirectamente cuantificado para correlacionarlo a la concentración de analito. Método NICHOLS INSTITUTE DIAGNOSTICS.

Valores Referenciales: 1,4 – 3,5 pg/mL

La muestra de suero es añadida a un tubo seguido por la adición de solución de anticuerpo que contiene un agente bloqueador para liberar la T3 de sus proteínas ligadoras, la T3 marcada quimioluminiscentemente y la perla envuelta en anticuerpo. La T3 marcada y aquella presente en el suero compiten por una cantidad limitada de anticuerpos contra la T3 la cual es capturada por la perla recubierta de anticuerpo antiratón. En el equilibrio la cantidad de T3 marcada ligada a la perla será inversamente proporcional a la cantidad de T3 en el suero. La T3 marcada no ligada es separada por aspiración de la mezcla de reacción y lavada. Los tubos que contienen las perlas lavadas son colocados en el luminómetro marca NICHOLS INSTITUTE DIAGNOSTICS.

Determinación de T₄ Libre

Esta prueba utiliza ésteres de acridina quimioluminiscentes como marcador en el inmunoensayo de quimioluminiscencia. Los ésteres de acridina emiten luz después del tratamiento con peróxido de hidrógeno y una solución alcalina. Este ensayo es de tipo inhibición competitiva, utiliza T₄ inmovilizadas en perlas de poliestireno y anticuerpos monoclonales de ratón a la T₄ con un éster de acridina. Método NICHOLS INSTITUTE DIAGNOSTICS. Valores Referenciales: 0,7 – 1,8 ng/dL

La muestra es añadida a un tubo seguido por la adición del anticuerpo marcado quimioluminiscente y la perla. La T4 en la perla y la T4 libre en suero compiten por una cantidad limitada de anticuerpos marcados con moléculas quimioluminiscentes. La cantidad de anticuerpos marcados

unidos a las perlas con T4 será inversamente proporcional a la cantidad de T4 libre en el suero. La T4 en la fase sólida no se une a la TBG y albúmina. Por lo tanto, el ratio de T4 libre a T4 total no está afectado en el ensayo, el anticuerpo marcado no unido es separado por aspiración de la reacción mixta y posteriormente lavado. Los tubos que contienen las perlas lavadas son colocados en el luminómetro para su lectura.

Determinación de Anticuerpos Antirreceptor de TSH

La prueba está basada en una técnica de ELISA donde los anticuerpos en suero del paciente dirigidos contra el receptor de TSH (R-TSH) reaccionan con el receptor de TSH que revisten los posos de la placa de ELISA, el anticuerpo anti R-TSH ligado es detectado por la habilidad de estos de inhibir la unión de TSH (en forma de TSH-Biotina) al receptor contenido en las celdas. La cantidad de TSH ligado es evidenciado por la adición de estreptavidina peroxidasa, el sustrato de la peroxidasa de la tetrametilbenzidina. Los niveles de anticuerpos anti R-TSH son expresados como una inhibición de TSH ligado, indicado o leído en una curva estándar. La sensibilidad analítica es de 0,55 U/L. El "kit" utilizado es de DRG DIAGNOSTICS. Valores superiores a 1,5 U/L son positivos.

Determinación de Anticuerpos Anticardiolipina

Esta prueba utiliza cardiolipina bovina altamente purificada, es inicialmente ligada a las microceldas y saturadas con B-2 glicoproteína-I humana altamente purificada. La B-2 glicoproteína-I es conocida como un cofactor de unión de los anticuerpos anticardiolipina. Este revestimiento garantiza resultados reproducibles independientemente de B-2 glicoproteína-I endógena, el suero diluido de los pacientes, los estándares y controles son incorporados en las microceldas e incubados.

Los anticuerpos anticardiolipina, si están presentes, se unirán al antígeno formando complejos antígeno-anticuerpo, el residuo de las muestras es eliminado por aspirado y lavado. El conjugado (peroxidasa de rábano marcada anti inmunoglobulina IgG o IgM humana) es adicionado y se le ligará a estos complejos. El conjugado no ligado es removido por aspiración y lavado. Luego es añadido el sustrato e incubado y en presencia de la enzima ligada al sustrato es convertido en un producto coloreado. Por ultimo la solución stop es adicionada y la absorbancia de esta y el producto son leídos espectrofotométricamente a 450 nm y es directamente proporcional a la concentración de anticardiolipina IgG o IgM presente en la muestra.

Los resultados semicuantitativos pueden ser obtenidos mediante la curva realizada con los seis estándares. La sensibilidad relativa es de 92% y la especificidad relativa de 100% para anticuerpos IgG y para anticuerpos del tipo IgM la sensibilidad relativa es de 78% con una especificidad relativa de 100%. El "Kit" utilizado es DIAMEDIX IS-ANTICARDIOLIPIN IgG/IgM Test Kit. El rango de valores normales hasta 12,0 U/ml es negativo, es decir, no detectables anticuerpos anticardiolipina.

ANALISIS ESTADÍSTICO

Se ofrece el programa MINITAB un paquete estadístico computacional en lenguaje sencillo de resolución estadística descriptiva y correlacional. Se reserban pruebas paramétricas y no paramétricas para el análisis inferencial. El nivel de significación está fijo en 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características de la muestra

Se estudiaron 84 pacientes con edades comprendidas entre 18 y 70 años, de los cuales solo 8 pacientes pertenecieron al género masculino (9,5%) y 76 al femenino (90,5%).

La muestra fue dividida en dos grupos de acuerdo a determinación de anticuerpos anti R-TSH, el grupo uno conformado por pacientes que presentaron títulos de anticuerpos anti R-TSH dentro del rango de valores considerados normales (menor de 1,5u/L) y el grupo dos por pacientes con títulos elevados de anticuerpos anti R-TSH (mayor de 1,5u/L) que se consideran hipertiroideos por etiología autoinmune.

En ambos grupos de pacientes no hubo una correlación significativa entre la edad y ninguna de las variables estudiadas, en relación al género de los pacientes estudiados no se encontró correlación significativa entre los títulos de anticuerpos estudiados y el género del paciente.

En la tabla 1 se muestra la frecuencia según la edad de los pacientes que participaron en el estudio, el mayor porcentaje se observó en el grupo de 40-59 años (55,9%), se puede observar de igual modo que el 65,4% de los pacientes son mayores de 40 años.

TABLA 1. DISTRIBUCION DE LA MUESTRA DE ACUERDO A LA EDAD DE PACIENTES HIPERTIROIDEOS. VALENCIA, 2004.

EDAD	FRECUENCIA	%	% ACUMULADO
18-39	29	34,6	34,6
40-59	47	55,9	90,5
>60	8	9,5	100
TOTAL	84	100	

En la tabla 2 se presenta la distribución de la muestra de acuerdo a los resultados obtenidos para cada determinación. La edad tuvo un promedio de $43,45 \pm 11,15$ años ($X \pm DS$). Los valores de aCL IgG e IgM presentaron una media de 13,48 y 11,43 respectivamente. El anticuerpo antirreceptor presenta una media de $12,18 \pm 15,6$.

El promedio de TSH fue de $0,060 \pm 0,068$ $\mu\text{UI/mL}$ ($X \pm DS$) con un rango mínimo de 0,01 y un rango máximo de 0,28. El promedio de los resultados de T3L es de $4,68 \pm 1,42$ con un rango mínimo de 2,2 y un máximo de 13,1. La determinación de T4L con una media de $2,86 \pm 1,5$ rango mínimo de 1,8 y rango máximo de 10,2. Como es de notar los pacientes presentan valores disminuidos de TSH y niveles aumentados de las hormonas tiroideas de acuerdo con su condición de hipertiroidismo.

TABLA 2. DISTRIBUCION ESTADISTICA DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS EN PACIENTES HIPERTIROIDEOS. VALENCIA 2004.

Variable	Nº de pacientes	Media	Desviación Estándar	Rango	
				Mínimo	Máximo
Edad	84	43,45	11,15	18,0	70,0
TSH	84	0,060	0,068	0,01	0,28
T3L	84	4,677	1,420	2,20	13,1
T4L	84	2,867	1,507	1,80	10,2
Anti R-TSH	84	12,18	15,58	0,00	48,4
aCL M	84	11,43	4,836	6,20	35,7
aCL G	84	13,48	16,06	0,00	71,0

En la tabla 3 se muestra el grupo de 30 pacientes (35,7%) que tienen niveles de anticuerpos anti R-TSH dentro del rango de valores normales, la media fue de $0,5267 \pm 0,3028$ con un rango máximo de 1,10. Los pacientes presentaron anticuerpos aCL del tipo IgM elevados con un promedio de $12,053 \pm 5,581$ (rango mínimo de 6,80 y máximo de 35,70) y los niveles de aCL IgG con un promedio de $4,26 \pm 17,045$ (rango máximo de 64,70). Aunque la media se encuentre dentro de los valores normales el 30% de los pacientes de este grupo presentan elevados los anticuerpos aCL IgG.

Tabla 3. DISTRIBUCION DE VALORES ESTADISTICOS DE VARIABLES EN EL GRUPO DE PACIENTES HIPERTIROIDEOS CON NIVELES NORMALES DE ANTICUERPOS ANTI RRECEPTOR DE TSH. VALENCIA, 2004.

Variable	Nº de pacientes	Media	Desviación Estándar	Rango	
				Mínimo	Máximo
TSH	30	0,0540	0,0683	0,01	0,20
T3L	30	4,1667	0,3745	3,60	5,10
T4L	30	2,3567	0,6616	1,90	4,80
Anti R-TSH	30	0,5267	0,3028	0,00	1,10
aCL M	30	12,053	5,5812	6,80	35,7
aCL G	30	4,2600	17,043	0,00	64,7

En la tabla 4 se muestra el grupo dos conformado por 54 pacientes (64,3%) los cuales presentan títulos elevados de anticuerpos anti R-TSH con un promedio de $18,657 \pm 16,140$ con un rango mínimo de 1,60 y un máximo de 48,40.

En un estudio realizado por Costagliola y col., (1999) el suero de 328 pacientes con EG (86 no tratados, 116 tratados y 126 en remisión) y 520 controles (de donantes sanos y pacientes con enfermedades autoinmunes o bocio) fueron probados con tres técnicas por radioinmunoensayo (RIA) para comprobar la sensibilidad diagnóstica de éstos, dando como resultado que los anticuerpos anti R-TSH fueron detectados en un 98% de los pacientes con Enfermedad de Graves con la prueba más sensible y en 80,2% con el ensayo convencional, demostrándose la sensibilidad diagnóstica de los anticuerpos anti R-TSH en la EG.

Metcalfe y col., (2002) En su estudio de los anticuerpos anti R-TSH humano con actividad biológica que causan la disfunción tiroidea y anticuerpos que se unen al receptor sin actividad, aplicaron citometría de flujo a los anticuerpos de tipo IgA, IgG, IgE inmunoreactivos al receptor de TSH (R-TSH) en pacientes con Enfermedad de Graves, exoftalmos y en pacientes normales. Demostraron la presencia de anticuerpos IgG en 55 de 65 pacientes con EG no tratados, 3 de 25 pacientes normales y 4 de 8 con exoftalmos, siendo menos perceptibles los isotipos IgA e IgE. Señalaron nuevamente la sensibilidad diagnóstica de la determinación de anticuerpos anti R-TSH en EG.

Tada y col., (2003) Determinaron en un ensayo por RIA los anticuerpos antirreceptor de TSH, sus resultados muestran que un 89,3% (25 de 28 pacientes) presentaron anticuerpos estimulantes de tiroides. Contrastando con un 64,3% de nuestros pacientes (54 de 84), todos con diagnóstico clínico y laboratorio de hipertiroidismo por causas autoinmunes o no autoinmunes a diferencia del estudio de Tada y col. en

el que los pacientes tenían EG, de la misma manera pueden influir en ésta diferencia el estado de la enfermedad tiroidea y el método utilizado para la determinación de dichos anticuerpos.

En relación con los anticuerpos aCL los pacientes del grupo dos presentaron valores aumentados, los del isotipo IgM con una media de $12,089 \pm 4,3864$ e IgG con una media de $13,054 \pm 15,641$. En este grupo los pacientes presentaron los anticuerpos aCL tanto IgM como IgG por encima de 12 U/mL en un 16,67% y 27,78% respectivamente, como se muestra en la tabla 5.

Marongiu y col., (1991), Determinaron Anticuerpos aCL del tipo IgG en 65 pacientes (entre 30 y 60 años), afectados por EG y sus resultados arrojaron que estos anticuerpos fueron significativamente elevados en comparación a controles. En nuestro estudio fueron determinados anticuerpos aCL IgM e IgG y los datos obtenidos evidencian que estos anticuerpos están aumentados en los pacientes que participaron en el estudio aun cuando no todos presentan EG. Hubo una ligera diferencia entre los isotipos IgM e IgG encontrándose más elevados los títulos de anticuerpos aCL IgG.

Tabla 4. DESCRIPCION DE VALORES ESTADISTICOS DE VARIABLES EN PACIENTES HIPERTIROIDEOS CON NIVELES AUMENTADOS DE ANTICUERPOS ANTIRRECEPTOR DE TSH. VALENCIA, 2004.

Variable	N° de pacientes	Media	Desviación Estándar	Rango	
				Mínimo	Máximo
TSH	54	0,0630	0,0688	0,01	0,28
T3L	54	4,9611	1,6891	2,20	13,1
T4L	54	3,1507	1,7567	1,80	10,2
Anti R-TSH	54	18,657	16,140	1,60	48,4
aCL M	54	12,089	4,3864	6,20	30,7
aCL G	54	13,054	15,641	0,80	71,0

TABLA 5. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE PACIENTES CON NIVELES AUMENTADOS DE ANTICUERPOS. VALENCIA, 2004.

VARIABLE	GRUPO 1	GRUPO 2	TOTAL
aCL IgM	(9) 30,0%	(9) 16,67%	(18) 21%
aCL IgG	(9) 30,0%	(15) 27,78%	(24) 29%
Anticuerpo Anti R-TSH	0,00%	(54) 64,30%	(54) 64,30%

En la tabla 6 se presentan las correlaciones de Pearson y P para el grupo 1 de las siguientes variables: Hormonas tiroideas (T₃L y T₄L), Anticuerpos antirreceptor de TSH (anticuerpos anti R-TSH) y Anticuerpos Anticardiolipinas (aCL IgG e IgM). Hubo una correlación media y negativa entre el anticuerpo antirreceptor de TSH y los anticuerpos anticardiolipina IgG (-0,4196) igualmente entre los anticuerpos anticardiolipina IgM y el anti R-TSH (-0,3361). Entre ambos isotipos de anticardiolipina se presento una correlación significativa (0,6110).

Tabla 6. MATRIZ DE CORRELACION DE PEARSON DE HORMONAS TIROIDEAS, ANTICUERPOS ANTIRRECEPTOR DE TSH Y ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA IgM E IgG EN PACIENTES CON HIPERTIROIDISMO, VALENCIA, 2004.

	TSH	T3L	T4L	ANTI TSH-R	aCL M
T3L	0,108 0,570				
T4L	-0,109 0,566	0,335 0,070			
ANTI R-TSH	-0,115 0,544	-0,019 0,919	0,087 0,648		
ACL M	-0,267 0,153	0,022 0,909	0,192 0,310	-0,336 0,069	
ACL G	0,135 0,477	0,062 0,747	0,242 0,197	-0,419 0,021	0,611 0,000

En la tabla 7 se señalan las correlaciones de Pearson y P de las variables: Hormonas tiroideas, TSH-R y anticardiolipina IgM e IgG del grupo 2. Donde se observó una correlación media y positiva entre el anticuerpo antirreceptor de TSH y las hormonas tiroideas T₃ Libre (0,528) y T₄ Libre (0,547). Hubo una baja correlación entre los anticuerpos antirreceptor de TSH y los anticuerpos anticardiolipina IgG (0,013) e IgM (0,115) existiendo una correlación media entre ambos isotipos (0,399).

Tabla 7. MATRIZ DE CORRELACION DE PEARSON DE HORMONAS TIROIDEAS, ANTICUERPOS ANTIRRECEPTOR DE TSH Y ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA IgM E IgG EN PACIENTES CON HIPERTIROIDISMO, VALENCIA, 2004.

	TSH	T3L	T4L	ANTI TSH-R	aCL M
T3L	-0,205 0,278				
T4L	0,115 0,545	0,392 0,032			
ANTI R-TSH	0,149 0,432	0,527 0,003	0,547 0,002		
ACL M	-0,002 0,999	0,070 0,712	-0,165 0,384	-0,115 0,544	
ACL G	-0,132 0,487	0,433 0,017	-0,122 0,521	0,013 0,946	0,399 0,028

Paggi y col. (1994), Estudiaron en 31 pacientes (de 42 a 45 años) la presencia y significancia de anticuerpos antifosfolípidos (14 con EG, 8 con Tiroiditis silente, 5 con Tiroiditis de Hashimoto y 4 con EG en remisión) para la determinación de los anticuerpos aCL se utilizó el método de ELISA, 17 de los pacientes (lo que representa el 54,8%) fueron positivos para aCL IgG y/o IgM, los mayores niveles encontrados en 3 pacientes con EG con severa tirotoxicosis. Aunque refieren que estos anticuerpos pudieran significar un mercado no específico de disregulación inmune, confirman una elevada presencia de anticuerpos aCL en pacientes con enfermedades autoinmunes tiroideas.

En nuestro estudio los anticuerpos aCL igualmente se encontraron elevados en el segundo grupo de pacientes, de igual manera en ambos grupos se detectaron anticuerpos aCL IgG ligeramente más elevados que los de tipo IgM.

Un estudio similar fue realizado por Diez y col., (1994) en el que se determinó anticuerpos aCL en 69 pacientes con enfermedades tiroideas de etiología no inmune y 72 controles saludables, también se realizó la determinación por el método de ELISA, de anticardiolipina IgG e IgM. Afirman no encontrar una diferencia significativa en la presencia de anticuerpos aCL en los pacientes estudiados y concluyen que no hay asociación entre estos anticuerpos y enfermedades autoinmunes tiroideas. Es posible que las discrepancias entre ambos estudios sean consecuencia de procedimientos de laboratorio diferentes, niveles de hormonas tiroideas y los niveles de anticuerpos aCL considerados de significancia clínica.

Según los hallazgos de la investigación se concluye que los anticuerpos anticardiolipina no tienen relación directa con el hipertiroidismo de etiología autoinmune.

CONCLUSIONES

- Los anticuerpos antirreceptor de TSH se encuentran elevados en 54 de los pacientes estudiados (64,3%) con una media de 18,66.
- Los anticuerpos anticardiolipina IgM se encuentran presentes en 18 pacientes (21%) y el isotipo IgG en 24 pacientes (29%).
- No hubo una correlación significativa entre la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y anticuerpos anticardiolipina con la edad y el género.
- Hubo una correlación media y negativa entre la presencia de anticuerpos antirreceptor de TSH y la presencia de anticuerpos aCL en el grupo de pacientes que no tienen niveles detectables de antirreceptor de TSH y se observó que en este grupo el 30% presentó un aumento de anticuerpos anticardiolipina tanto IgG como IgM.
- En los pacientes que presentaron anticuerpos antirreceptor de TSH se encuentran elevados los niveles de anticuerpos anticardiolipinas, aunque en un 16,67% y 27,78% los isotipos IgM e IgG respectivamente, se detectaron niveles más elevados en este grupo.

- En los pacientes que presentaron niveles aumentados de anticuerpos antirreceptor de TSH se observaron más elevados los niveles de hormonas tiroideas mostrando las siguientes correlaciones: T₃ Libre (0,527) y T₄ Libre (0,547).
- No existe una relación significativa entre los anticuerpos aCL y el hipertiroidismo de etiología autoinmune.

BIBLIOGRAFIA

Anderson, S., Cockayne, S. (1995). *Química Clínica*. Primera Edición. Editorial McGraw-Hill. pp 513-516.

Cienfuegos, I. y Carral, F. (2000). Hipertiroidismo. Concepto, Clasificación, Fisiopatología y Manifestaciones Clínicas. *Medicine* 8(18), 933-938.

Corona, H., González, D., Guevara, Y. (1999). Presencia de anticuerpos microsomales y antitiroglobulinas en pacientes con diagnóstico laboratorial de hipotiroidismo clínico y subclínico. Trabajo de Grado de Tesis. Universidad de Carabobo.

Costagliola, S., Morgenthaler, G., Hoermann, R., Badenhop, K., Struck, J., Freitag, D., Poeril, S., Schumm, P., Bergmann, A., Mann, K., Vassart, G. y Usadel, H. (1999). Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for graves disease. *The Journal of Clinical Endocrinology* 84(42), 125-129.

Díaz, G., Cantelejo, M. y Martín, E. (2000). Síndrome antifosfolípido. *Medicine*, 8 (29), 1514-1579.

Diez, J., Borbujo, J. (1994). Anticardiolipin antibodies in autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol* (41), 697-698.

Ganong, W. (1999). *Fisiología Médica*. Décima Sexta Edición. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, pp 355-370.

Guyton, A., Hall, J. *Tratado de Fisiología Médica*. Novena Edición. Editorial Interamericana. México, 1997. pp 1033-1045

Guyton, A., Hall, J. *Tratado de Fisiología Médica*. Décima Edición. Editorial Interamericana. México, 2001. pp 1040-1042

Harrison, T., Fauci, A., Kasper, D., Hauser, S., Longo, D., Jamenson, J. (2002). *Harrison: Principios de Medicina Interna*. Jamenson, J. *Endocrinología y Metabolismo*. Décima Quinta Edición. Editorial McGraw-Hill. pp 2361-2414

Marongiu, F., Conti, M., Murtas, M., Sorano, G., Mamei, G., Salis, G., Mathicu, A., Martino, E. (1991). Anticardiolipin antibodies in Graves disease: relationship with trombón activity in vivo. *Thrombosis Research*. (64), 745-749.

Metcalfe, R., Jordan, N., Watson, P., Gullu, S., Wiltshire, M., Crisp, M., Evans, C., Weetman, A. y Lerdgute. (2002). Demonstration of Immunoglobulin G; A; and E Autoantibodies to the Human Thyrotropin Receptor Using Flow Cytometry. *The Journal Endocrinology*. 22(58), 286-291.

Montgomery, R., Conway, T., Spector, A., Chappell. (1999). *Endocrinología molecular: Hormonas que actúan en el interior de la célula*. En *Bioquímica: Casos y textos*. Sexta Edición. Editorial Harcourt Brace. pp 587-592.

Paggi, A., Caccavo, D., Ferri, G., Di Prima, M., Amoroso, A., Vacaro, F., Bocono, L., Afeltra, A. (1994 a). Anticardiolipin antibodies in autoimmune thyroid disease, *Clin Endocrinol*. (40), 329-333.

Paggi, A., Caccavo, D., Ferri, G., Afeltra, A. (1994 b). Anticardiolipin antibodies in autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol*. (41), 697.

Shaw W, Smith S, Frantz S, Caplan S (2007) *Journal of Laboratory Clinical Medicine*; Columbia University 148 pp 327

Leite M, Wozniak J, Taborin J, Taborin R, Lerner S, Wozniak J
Smith S (2003) *Endocrinology and Metabolism: Principles and Practice*
In: *Endocrinology and Metabolism: Principles and Practice* in Clinical
Medicine. Clinical Endocrinology 4(14): 113-117