

Presença de auto-anticorpos não-tireóide-específicos no soro de pacientes com hipotireoidismo auto-imune

Presence of nonthyroid-specific autoantibodies in autoimmune hypothyroidism

Débora Vieira Soares¹
Bart O. M. Vanderborght²
Mário Vaisman³

unitermos

Hipotireoidismo auto-imune
Auto-anticorpos
Anticorpos antinucleares

resumo

Auto-anticorpos contra componentes não-específicos da tireóide foram encontrados no soro de pacientes com doença auto-imune da tireóide. Neste estudo avaliamos a presença de auto-anticorpos antinucleares (ANA), antimúsculo liso (anti-ML) e antimitocôndria (anti-Mc) no soro de pacientes com hipotireoidismo auto-imune (HA), comparando-os a controles saudáveis. Estudamos 70 pacientes com hipotireoidismo auto-imune (tireoidite de Hashimoto ou tireoidite atrófica) e 70 controles saudáveis (sem diagnóstico de doença auto-imune e tireoidiana), todos do sexo feminino, com média de idade de 50,2 anos (+ 15,9) e 49,6 anos (+ 14,4), respectivamente. O ANA, detectado através do sistema Inno-LIA™ ANA (Innogenetics, Bélgica), foi positivo em 26% dos pacientes com HA e em 14% dos controles, não sendo esta diferença significativa ($p = 0,09$). Não houve diferença entre tempo de doença ou idade entre os grupos ANA positivo ou negativo. Anticorpos anti-ML e anti-Mc foram negativos em todas as amostras, sendo analisados através de imunofluorescência indireta. Concluímos que pacientes com hipotireoidismo auto-imune não apresentaram maior incidência de auto-anticorpos não-específicos para tireóide do que controles saudáveis. Ressaltamos, contudo, que a associação entre doenças auto-imunes da tireóide e outras doenças auto-imunes é fato incontestável, podendo ocorrer em qualquer período no curso de sua evolução. Portanto avaliações regulares são recomendadas.

abstract

Autoantibodies against nonthyroid-specific components were detected in sera of patients with autoimmune thyroid disease. In this study we investigated the presence of the antinuclear antibody (ANA), antismooth muscle antibody (anti-SM) and antimitochondrial antibody (anti-Mc) in the sera of patients with autoimmune hypothyroidism comparing them to a control group. We studied 70 patients with autoimmune hypothyroidism (Hashimoto's or atrophic thyroiditis) and 70 healthy controls (subjects without autoimmune and thyroid diseases), all female, mean age 50.2 (+ 15.9) and 49.6 years (+ 14.4), respectively. ANA was detected by Inno-LIA™ ANA (Innogenetics, Belgium) in 26% of the patients with autoimmune hypothyroidism and in 14% of the controls; this difference was not statistically significant ($p = 0.09$). There were no differences between disease duration or age between the groups whether ANA was positive or not. Antibodies anti-Mc and anti-SM were not detected in any analyzed sample. In conclusion, patients with autoimmune hypothyroidism did not have greater incidence of autoantibodies against nonthyroid-specific components than healthy controls. Nevertheless, we emphasize that the association between autoimmune thyroid disease and other autoimmune diseases is undeniable and therefore regular assessments are recommended.

key words

Autoimmune hypothyroidism
Autoantibodies
Antinuclear antibodies

1. MD; Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (HUCFF/UFRJ).
2. MSc; Serviço de Biologia Molecular do HUCFF/UFRJ.
3. MD; PhD; Serviço de Endocrinologia do HUCFF/UFRJ.

Introdução

As doenças auto-imunes órgão-específicas caracterizam-se pela presença de auto-anticorpos contra componentes específicos dos tecidos do órgão-alvo. Acometem várias glândulas endócrinas, como tireóide (hipotireoidismo auto-imune, doença de Graves), ilhotas de Langerhans (diabetes melito tipo 1) e adrenais (doença de Addison).

A doença auto-imune da tireóide (Dait) compreende um espectro de condições, sendo os dois extremos o hipertireoidismo da doença de Graves e o hipotireoidismo auto-imune. No caso desta última, duas formas clínicas ocorrem: com bócio (tireoidite de Hashimoto) ou sem bócio (tireoidite atrófica ou mixedema) (2, 11). Estão presentes anticorpos contra vários antígenos específicos da tireóide, sendo os principais a tireoglobulina (Tg), a peroxidase tireoidiana (TPO), o receptor da tireotropina (R-TSH) e o co-transportador de sódio-iodeto (*symporter sodium-iodide* – NIS), uma proteína específica da tireóide responsável pela captação de iodo (23, 26).

As Dait ocorrem no curso de várias outras doenças auto-imunes, e anticorpos antitireoidianos apresentam-se em várias destas doenças (3, 4, 7, 22, 24), inclusive as não-órgão-específicas como lúpus eritematoso sistêmico (LES) e síndrome de Sjögren (5, 14, 20, 21).

Por outro lado, anticorpos contra componentes não-específicos da tireóide também foram encontrados no soro de pacientes com tireoidite auto-imune (1, 6, 12, 13, 17, 19, 25).

Neste estudo avaliamos a presença de auto-anticorpos antinucleares (ANA), antimúsculo liso (anti-ML) e antimitocôndria (anti-Mc) no soro de pacientes com hipotireoidismo auto-imune (HA), comparando-os a controles saudáveis.

Pacientes

Avaliamos 70 pacientes com hipotireoidismo auto-imune e 70 controles saudáveis. Todos assinaram termo de consentimento concordando em participar do estudo, que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Pacientes com hipotireoidismo auto-imune (tireoidite de Hashimoto ou tireoidite atrófica) apresentavam anticorpos antitireoglobulina e antimicrosomal positivos (maiores que 1/100, por aglutinação indireta) e estavam em reposição com levotiroxina. Todos do sexo feminino, com

média de idade 50,2 anos (+ 15,9) e tempo médio de diagnóstico de HA de 7,62 anos (+ 7,72).

No grupo controle (indivíduos sem diagnóstico de doença auto-imune e tireoidiana), todos do sexo feminino, a média de idade era de 49,6 anos (+ 14,4).

Foram excluídos pacientes com doenças infecciosas, alérgicas, hepáticas, pulmonares, hematológicas, malignas ou em uso de drogas que sabidamente induzam ANA positivo.

Métodos

Anticorpo anti-TPO (10) foi dosado em todo o grupo controle, utilizando-se um ensaio enzima-imunométrico quimioluminescente (Immulite[®], DPC[®]) cujo valor de referência considerado positivo foi > 35UI/ml.

Anticorpos antinucleares foram detectados através do sistema Inno-LIA[™] ANA (Innogenetics, Bélgica) (18) (Figura). O teste consiste na presença de proteínas recombinantes e/ou nucleares nativas – Sm, RNP, SS-A, SS-B, centrômero, Scl70-topoisomerase I, Jo-1, histonas, RNP ribossomal (proteína P) e Poli dt (sintético) – que estão colocadas como linhas paralelas sobre uma membrana de náilon de aproximadamente 3mm de largura, tendo uma fita plástica como suporte.

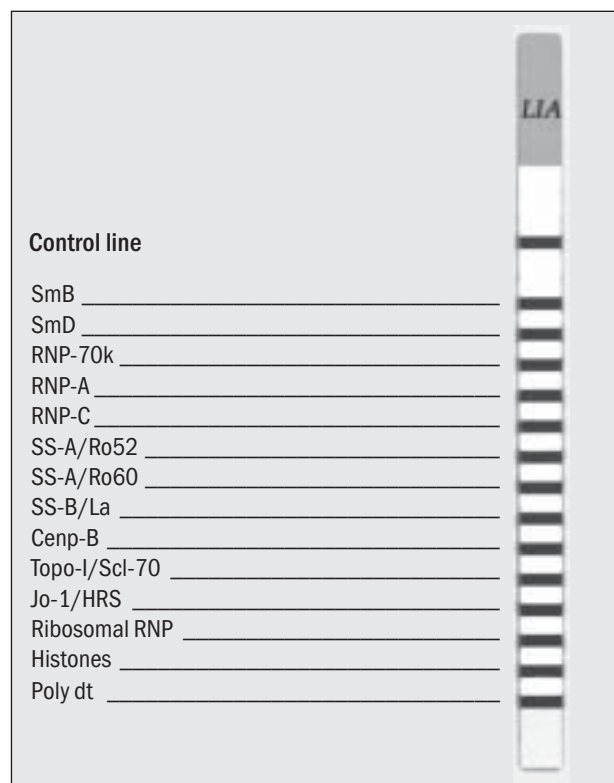


Figura – Fita do teste Inno-LIA[™] ANA

A reação se dá pela ligação de anticorpos específicos, que podem estar presentes no soro às linhas de auto-antígenos presentes na fita. Para revelação é adicionada a reação anti-IgG humana marcada com fosfatase alcalina, que se ligará ao complexo antígeno/anticorpo formado previamente. Para interpretação dos resultados se faz necessária a adição de uma fita que serve de parâmetro de comparação, o *cut-off*. O controle é o soro de maior representatividade, selecionado pela presença de diferentes sinais de *background*, numa amostragem de 490 soros. Um resultado é considerado positivo quando a reatividade de suas bandas (uma ou mais) for de maior intensidade que as presentes no *cut-off*. A sensibilidade e a especificidade do Inno-LIA™ foram estudadas para cada anticorpo detectado pelo método em várias amostras de soro de pacientes de diferentes grupos de doenças auto-imunes.

Em relação a outras técnicas, como imunofluorescência indireta, Western Blot e Elisa, o sistema apresenta: sensibilidade semelhante, sem perda da especificidade, para diagnóstico de marcadores e de doenças associadas (18); detecção de 15 determinantes diferentes da amostra em uma única reação; baixa variabilidade em função do uso de antígenos recombinantes; resultado objetivo, que pode ser dado quantitativamente. Esta análise quantitativa é feita utilizando-se um *software* que compara a intensidade de cada reação da fita auto-antígenos com a intensidade da banda correspondente na fita controle. Em nosso estudo fizemos somente análise qualitativa.

Anticorpos antimúsculo liso e antimitocôndria foram detectados através de imunofluorescência indireta utilizando-se o *kit* The Binding Site (Birmingham, UK).

Análise estatística

Para avaliar diferenças na positividade do ANA entre os grupos foi utilizado o teste do qui-quadrado. Para veri-

ficar diferenças entre as idades utilizamos o teste *t* de Student. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para verificar associação entre o tempo de doença e a positividade do ANA. O nível de significância foi de 5%.

Resultados

Não houve diferença significativa entre as idades dos grupos ($p = 0,81$) nem entre as idades dos pacientes e controles com ANA positivo ou negativo (Tabela).

No grupo controle todos os pacientes apresentavam anticorpo anti-TPO < 35UI/ml, média de 16,6UI/ml (+ 7,8).

O ANA foi positivo em dez controles (14%) e em 18 pacientes (26%) com HA, não sendo esta diferença significativa ($p = 0,09$) (Tabela). Não houve predomínio de positividade entre as proteínas analisadas.

O período em anos a contar do momento do diagnóstico do HA foi em média de 6,5 anos (+ 5,3) para pacientes com ANA positivo e 7,8 anos (+ 8,2) para pacientes com ANA negativo, não sendo esta diferença significativa ($p = 0,92$).

Anticorpos anti-ML e anti-Mc foram negativos em todas as amostras analisadas.

Discussão

Não foi encontrada, em nosso estudo, diferença significativa quanto à presença de ANA, anticorpos anti-ML ou anti-Mc em pacientes com hipotireoidismo auto-imune quando em comparação com controles saudáveis.

Anticorpos anti-Mc também não apresentaram positividade significativa em outros estudos (15, 19).

O anticorpo anti-ML descrito inicialmente como específico para hepatite auto-imune (9) foi encontrado posteriormente no soro de pacientes sem doença hepática

Tabela

Resultados do ANA/HA versus controles

	Nº de pacientes	Idade	Anos de doença
HA	70	50,2 (± 15,9)'''	
ANA +	18*	47,5 (± 15,4)**	6,58 (± 5,3)§
ANA -	52	51 (± 16,1)**	7,8 (± 8,2)§
Controles	70	49,6 (± 14,4)'''	
ANA +	10*	52,5 (± 14,7)''	
ANA -	60	49 (± 14,4)''	

HA = hipotireoidismo auto-imune; * $p = 0,09$; ''' $p = 0,8$; ** $p = 0,42$; '' $p = 0,47$; § $p = 0,92$.

(16) e detectado de forma significativa em 28,6% e 36% dos pacientes com doença auto-imune da tireóide estudados por Lacka *et al.* e Morita *et al.* (15, 19), respectivamente.

Morita *et al.* (19), avaliando a presença de alguns auto-anticorpos no soro de pacientes com doença auto-imune da tireóide, encontraram positividade significativa de ANA em 32% dos pacientes com TH em comparação com 8% dos controles. Em outro estudo, Katura *et al.* (12), estudando 32 pacientes com tireoidite de Hashimoto (TH), verificaram ANA positivo em apenas quatro destes. Kiljnaski *et al.* (13) e Lacka *et al.* (15) encontraram ANA positivo em apenas 7% e 13%, respectivamente, de pacientes com TH.

Inamo & Harada (8), estudando pacientes pediátricos, verificaram uma incidência significativamente maior de ANA positivo em pacientes com doença de Graves (DG) quando em comparação com pacientes com TH.

Baethge *et al.* (1) estudaram pacientes com DG e encontraram ANA positivo em 75% deles vs. 14% de Katura *et al.* (12).

Várias hipóteses têm sido aventadas na tentativa de explicar estes resultados conflitantes: diferenças nos métodos utilizados para avaliação do ANA, grau de atividade e características clínicas da doença (8, 12, 13, 25) e diferenças genéticas entre as populações estudadas. Em nosso estudo e no de Baethge (1) foram estudadas populações latinas e norte-americanas geneticamente heterogêneas, enquanto Morita (19) e Katura (12) estudaram

populações japonesas. Contudo nossos dados são mais compatíveis com os de Katura *et al.* (12), enquanto Baethge (1) e Morita (19) obtiveram resultados mais semelhantes entre si.

Kohno *et al.* (14) verificaram que, apesar de pacientes com LES apresentarem maior incidência de anti-TPO positivo quando comparados a um grupo de controles saudáveis, este anti-TPO teria uma diferença qualitativa (menor capacidade de inibir a atividade da TPO) em relação ao presente no soro de pacientes com TH (14), o que é relevante quando se avalia associação entre LES e doenças da tireóide. Por outro lado, pacientes com Dait tratados apresentam menor incidência de auto-anticorpo anti-DNA positivo quando em comparação com pacientes com Dait ainda não-tratados (12), o que pode significar uma exacerbação temporária do sistema auto-imune.

Concluimos que pacientes com hipotireoidismo auto-imune não apresentaram maior incidência de auto-anticorpos não-específicos para tireóide do que controles saudáveis. Informações contrastantes foram encontradas na literatura, inclusive no que diz respeito ao significado e ao valor da presença destes anticorpos quando encontrados no soro de pacientes com doença auto-imune da tireóide.

Ressaltamos, contudo, que a associação entre doenças auto-imunes da tireóide e outras doenças auto-imunes é fato incontestável (5, 20), podendo ocorrer em qualquer período no curso de sua evolução. Portanto avaliações regulares são recomendadas.

Referências

1. Baethge, B.A.; Levine, S.N. & Wolf, R.E. Antibodies to nuclear antigens in Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 66: 485-8, 1988.
2. Barbesino, G. & Chiovato, L. The genetics of Hashimoto's disease. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 29: 357-73, 2000.
3. Centanni, M. *et al.* Atrophic body gastritis in patients with autoimmune thyroid disease: an underdiagnosed association. *Arch. Intern. Med.*, 159: 1726-30, 1999.
4. Collin, P. *et al.* Autoimmune thyroid disorders and coeliac disease. *Eur. J. Endocrinol.*, 130: 137-40, 1994.
5. Gaches, F. *et al.* Frequency of autoimmune diseases in 218 patients with autoimmune thyroid pathologies. *Rev. Med. Interne.*, 19: 173-9, 1998.
6. Hansen, B.N. *et al.* Pituitary-cell autoantibody diversity in sera from patients with untreated Graves' disease. *Autoimmunity*, 5: 49-57, 1989.
7. Hegedus L. *et al.* High frequency of thyroid dysfunction in patients with vitiligo. *Acta Dermato-Venereol.*, 74: 120-3, 1994.
8. Inamo, Y. & Harada, K. Antinuclear antibody positivity in pediatric patients with autoimmune thyroid disease. *J. Rheumatol.*, 24: 576-8, 1997.
9. Johnson, G.D.; Holborow, E.J. & Glynn, L.E. Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. *Lancet*, ii: 878-9, 1965.
10. Kaczur, V. *et al.* Effect of anti-thyroid peroxidase (TPO) antibodies on TPO activity measured by chemiluminescence assay. *Clin. Chem.*, 43: 1392-6, 1997.
11. Kasagi, K. *et al.* Clinical significance measurements of antithyroid antibodies in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis: comparison with histological findings. *Thyroid*, 6: 445-9, 1996.
12. Katakura, M. *et al.* Presence of antideoxyribonucleic acid antibody in patients with hyperthyroidism of Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 64: 405-8, 1987.
13. Kiljanski, J.I. *et al.* Antibodies against striated muscle, connective tissue and nuclear antigens in patients with thyroid-associated ophthalmopathy: should Graves' disease be considered a collagen disorder? *J. Endocrinol. Invest.*, 20: 581-91, 1997.

14. Kohno, Y. et al. Anti-thyroid peroxidase antibody activity in sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.*, 75: 217-21, 1989.
15. Lacka, K.; Jarczewska K. & Gembicki, M. Occurrence of various autoantibodies in autoimmune disease. *Polski tygodnik Lekarski*, 44: 751-3, 1989 (abstract).
16. Lopez, O.L. et al. Serum autoantibodies in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia and in nondemented control subjects. *Stroke*, 23: 1078-83, 1992.
17. McDermott, M.T. et al. Antideoxyribonucleic acid antibodies in Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71: 509-11, 1990.
18. Meheus, L. et al. Multicenter validation of recombinant, natural and synthetic antigens used in a single multiparameter assay for the detection of specific anti-nuclear autoantibodies in connective tissue disorders. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 17: 205-14, 1999.
19. Morita, S.; Arima, T. & Matsuda, M. Prevalence of nonthyroid specific autoantibodies in autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 80: 1203-6, 1995.
20. Park, D.J. et al. Thyroid disorders in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Scan. J. Rheumatol.*, 24: 13-7, 1995.
21. Pérez-E, B. et al. Autoimmune thyroid disease in primary Sjögren's syndrome. *Am. J. Med.*, 99: 480-4, 1995.
22. Roldán, MB.; Alonso M. & Barrio, R. Thyroid autoimmunity in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Nutr. Metab.*, 12: 27-31, 1999.
23. Roman, S.H. et al. Genetics of autoimmune thyroid disease: Lack of evidence for linkage to HLA within families. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 74: 496-503, 1992.
24. Shah, S.A.; Peppercorn, M.A. & Pallotta, J. A. Autoimmune (Hashimoto's) Crohn's disease. *J. Clin. Gastroenterol.*, 26: 117-20, 1998.
25. Tajiri, I. et al. Elevation of anti-DNA titer during thyrotoxic phase of silent thyroiditis. *Arch. Intern. Med.*, 146: 1623-4, 1986.
26. Weetman, A.P. & McGregor, A. Autoimmune thyroid disease: Further developments in our understanding. *Endocr. Rev.*, 15: 788-829, 1994.

Endereço para correspondência

Débora Vieira Soares
Av. Maracanã 1523/203 – Tijuca
CEP 20511-000 – Rio de Janeiro-RJ
Tel.: (21) 2570-8965
e-mail: endocrinologia@hucff.ufrj.br