

112139
Rj.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SUBDIRECCION GENERAL MEDICA DELEGACION 3
SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO
SEPULVEDA G" CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA, DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO

HAPLOTIPOS HLA EN PACIENTES MEXICANOS
CON PARALISIS PERIODICA TIROTOXICA

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL DIPLOMA COMO ESPECIALISTA EN

ENDOCRINOLOGIA

PRESENTA:

SALVADOR CLEMENTE VILLANUEVA ZUÑIGA

MEXICO, D. F.

FEBRERO, 1997.

TESIS CON
FALLA DE CUBRÓN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

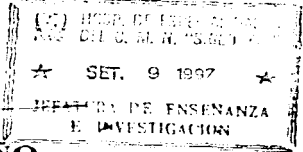
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Handwritten signature

DR. NIELS HANSEN WACHER RODARTE

JEFE DE LA DIVISION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G"
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



Handwritten signature

DR. ARTURO ZARATE TREVINO

JEFE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION DE ENFERMEDADES ENDOCRINAS
TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN ENDOCRINOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G"
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Handwritten signature

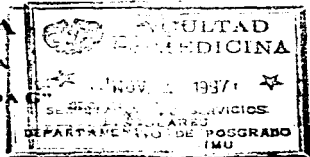
DR. MOISES MERCADO ATRI

JEFE DEL SERVICIO DE ENDOCRINOLOGIA
ASESOR DE TESIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G"
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Handwritten signature

DRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA

MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE ENDOCRINOLOGIA
ASESOR DE TESIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G"
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



DEDICATORIA

A IRENE Y A DANIA

POR SU SACRIFICIO.

A MIS PADRES Y HERMANOS

POR SU CARINO Y APOYO.

AGRADECIMIENTOS

A MIS MAESTROS

POR SU GUIA Y GRAN APOYO.

INDICE

ANTECEDENTES JUSTIFICACION

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

HIPOTESIS

OBJETIVO GENERAL

MATERIAL Y METODOS

- Diseño del Estudio
- Universo de Trabajo
- Selección de la Muestra
 - a).- Tamaño de la muestra
 - b).- Criterios de Selección
 - Criterios de inclusión
 - Criterios de no inclusión
 - Criterios de exclusión
- Descripción de las Variables
 - Según la metodología
 - Variable Independiente
 - Variables Dependientes
- Descripción Operativa
 - Pruebas Funcionales Tiroideas

Tipificación de HLA

- Recursos para el Estudio
- Recursos Humanos
- Recursos materiales
- Recursos financieros
- Análisis estadístico

CONSIDERACIONES ETICAS

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

TABLAS Y GRAFICAS

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION

La parálisis periódica tirotóxica (PPT), es una complicación rara del hipertiroidismo (1,2) que consiste en el desarrollo de debilidad y/o parálisis neuromuscular. Varios grupos musculares pueden afectarse, mas comúnmente, los de miembros inferiores, seguidos en frecuencia por los de miembros superiores y rara vez músculos respiratorios.

Los episodios de parálisis pueden variar de intensidad desde leves a severos y ser asimétricos o atípicos en localización. Las funciones mentales superiores y la función sensorial no son afectadas. Rara vez se involucran músculos bulbares u oculares. Estos episodios ocurren en pacientes con hipertiroidismo, y se asocian a hipokalemia.

Los factores precipitantes de PPT incluyen la actividad física extenuante y la ingesta de alimentos ricos en carbohidratos o de bebidas alcohólicas. Aunque la PPT ha sido reportada en el contexto de todos los tipos de hipertiroidismo, la mayoría de los casos ocurren en pacientes con enfermedad de Graves (2,3). En algunos casos, el hipertiroidismo precede a la PPT, en otros se presenta simultáneamente, y en otros mas, la PPT puede preceder al hipertiroidismo. (3).

La PPT se reporta predominantemente en varones de descendencia Asiática: mas del 80% de todos los reportes de PPT provienen del Japón o China (15). Esta complicación del hipertiroidismo es poco común en poblaciones caucásicas y negras, (3). La PPT se ha reportado también en individuos con algún grado de mezcla genética nativo-americana tales como indios nativos americanos y mexicanos. Lo anterior quizás se deba a la existencia de un ancestro común entre asiáticos y nativo americanos (3,5,7). Se sabe que la enfermedad de Graves se asocia en forma específica a antígenos HLA tanto de clase I como de clase II (8,10). Resalta la asociación con el haplotipo HLA-DR3, mismo que tiene una frecuencia del 60% en pacientes caucásicos con enfermedad de Graves (18). En estudios realizados en China se encontró una alta incidencia de los antígenos HLA-Bw46 y B40, en pacientes con enfermedad de Graves independientemente de si presentaban o no PPT (9). En otro estudio realizado en pacientes japoneses, los haplotipos HLA mas frecuentes fueron A2, Cw3 y DR8 (3,10).

Dado el incremento en la susceptibilidad para PPT en algunos grupos étnicos y considerando las bases autoinmunes de la enfermedad de Graves, seria

interesante encontrar un marcador inmunogenético que pudiera identificar a las poblaciones que con mayor frecuencia padecen de esta condición.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En poblaciones de origen asiático la presencia de ciertos haplotipos I LA se ha asociado al desarrollo de PPT. La PPT se ha reportado también en poblaciones con una mezcla genética nativo-americana, tales como los indios nativos de Estados Unidos y la población mexicana mestiza. En estas últimas poblaciones, no existen estudios inmunogenéticos en pacientes con PPT.

Durante los últimos 3 años se han documentado 14 casos de PPT en el Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI. Similar a lo que sucede en otras partes del mundo, nuestros casos de PPT suceden predominantemente asociados a enfermedad de Graves y son más frecuentes en hombres que en mujeres. En 8 de estos casos, nosotros determinamos antígenos HLA de clase I y II.

HIPOTESIS

Los pacientes mexicanos con enfermedad de Graves y PPT poseen haplotipos HLA específicos, diferentes a los encontrados en controles sanos del mismo origen étnico y en pacientes con enfermedad de Graves sin PPT.

OBJETIVO

Determinar antígenos HLA de clase I y II en pacientes mexicanos con PPT, comparando sus perfiles con los obtenidos en pacientes con enfermedad de Graves sin parálisis.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del Estudio:

Transversal y comparativo.

Universo de Trabajo:

Nuestra población de pacientes consistió de 14 casos con hipertiroidismo por enfermedad de Graves-Basedow y PPT y 10 pacientes con hipertiroidismo por enfermedad de Graves-Basedow sin parálisis periódica que fueron vistos y seguidos en la consulta externa de los servicios de Endocrinología y Medicina Interna del Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepulveda G" del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social en los últimos 3 años (enero de 1994 a enero del 1996).

Procedimiento:

El diagnóstico de hipertiroidismo por enfermedad de Graves fue establecido por la presencia de signos y síntomas de tirotoxicosis, acompañados por un bocio difuso y una captación de radioyodo incrementada (>40% en 24 hrs), así

como evidencia bioquímica de hipertiroidismo (elevación de los niveles circulantes de T3 y T4 total y de T4 libre, así como niveles suprimidos de TSH). La PPT fue diagnosticada en base a uno o más episodios de parálisis flácida, acompañada de un potasio sérico bajo (< 3.3 mEq/L) y ocurriendo en el contexto de evidencia bioquímica y clínica de hipertiroidismo. Los exámenes iniciales incluyeron, pruebas funcionales tiroideas (PFT: T3, T4, T4L, TSH), electrolitos séricos, y haplotipos HLA. En las valoraciones posteriores se solicitaron controles de PFT y electrolitos séricos. Se formaron 2 grupos: grupo A, enfermedad de Graves-Basedow con PPT y grupo B, enfermedad de Graves-Basedow sin PPT. Los resultados de serología de HLA de estos 2 grupos fueron comparados con una base de datos sobre HLA en más de 100 mexicanos sanos realizada previamente por el Dr. Jorge Arellano de la Unidad de Investigación en Inmunología del Hospital de Pediatría de CMN S. XXI.

Selección de la muestra.

a) Tamaño de la muestra:

El grupo A (Graves con PPT) consistió de 8 sujetos mientras que el grupo B (Graves sin PPT) de 10.

b) Criterios de selección.

- Criterios de inclusión:

Pacientes con datos clínicos de hipertiroidismo, hipokalemia y PPT.

Ambos sexos

Mayores de 16 años y menores de 65 años de edad.

- Criterios de no inclusión:

Hipokalemia de distinta etiología (diuréticos, insuficiencia renal, etc).

Parálisis hipokalémica no tirotóxica.

Descripción de las variables.

a) Según la metodología:

- Variables independientes: Haplotipos HLA
Pruebas de Función Tiroidea
- Variables dependientes: Triyodotironina (T3)

Tetrayodotironina (T4)

Tetrayodotironina libre (T4L)

Tirotripina (TSH)

Moléculas HLA de clase I

Moléculas HLA de clase II

b).- Descripción Operativa:

La tipificación de HLA, A, B, DR y DQ, fue realizada en ayuno y con perlas de vidrio para desfibrinizar sangre venosa usando los dos pasos de microtóxicidad sobre placas precargadas que incluyeron las siguientes especificidades: 12 HLA-A, 21 HLA-DR y 3 HLA-DQ (Pel-Freeze, Roger, AK) (11). Los antígenos HLA-A y HLA-B fueron determinados en linfocitos de sangre periférica, separados por gradiente de Ficoll-Hypaque (Sigma Chemical Corp, St. Louis, MO). Los antígenos HLA-DR y D fueron realizados en linfocitos B, obtenidos por método limpho kwik B (One Lambda, Los Angeles, CA o por la columna lana naylor (12).

La T4 fue medida por radioinmunoanálisis (RIA) de anticuerpo policlonal (RIA), con un coeficiente de variación interensayo del 4% e intraensayo de 3%

(Amerlex-MT4 RIA, Johnson and Johnson Clinical Diagnostics, Amersham UK, Rochester, New York). La T4 libre fue determinada mediante un RIA competitivo de anticuerpo monoclonal, con un coeficiente de variación interensayo de 6.1% e intraensayo de 5.3% (Amerlex-MAB FT4, Johnson and Johnson Clinical Diagnostics, Amersham UK, Rochester, New York). La T3 total fue cuantificada por RIA de anticuerpo policlonal con un coeficiente de variación inter e intraensayo del 7% (CIS Bio International, Gif-Sur-Ivette, France). Se utilizó un ensayo inmunoradiométrico de doble anticuerpo para medir TSH, con una sensibilidad de 0.03 μ IU/ml, y un coeficiente de variación interensayo e intraensayo de 4.2% y 5.6%, respectivamente (Binax, Portland, ME).

Consideraciones Éticas

Los pacientes de ambos grupos recibieron el tratamiento convencional de su condición tiroidea, el cual incluye antitiroideos del tipo del metimazol, beta-bloqueadores del tipo del propranolol y eventualmente, radioyodo, según las condiciones clínicas del paciente. Los pacientes con PPT fueron tratados con soluciones parenterales y KCl. La tipificación de antígenos HLA se realizó en

10 ml de sangre periférica. La obtención de dicha muestra de sangre no interfirió en ningún momento con el tratamiento que los pacientes habían de recibir. Los pacientes firmaron una carta de consentimiento en la que aceptaban se les tome la muestra extra de sangre para la tipificación de antígenos HLA. El proyecto respetó las normas y procedimientos institucionales, nacionales e internacionales sobre investigación en humanos.

Recursos para el Estudio.

a) Recursos Humanos:

Residentes y médicos de base de los servicios de Endocrinología y Medicina Interna. Personal del laboratorio de Medicina Nuclear y del laboratorio de Inmunología del Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI.

b) Recursos materiales:

Metimazol, Iodo-[131], ampollitas de cloruro de potasio, jeringas, torundas, tubos de ensayo, reactivos, de los laboratorios, expediente de los pacientes.

c) Recursos financieros:

El Instituto ya contaba con el material y los recursos humanos por lo que no se necesitó erogación extra.

Análisis Estadístico.

Se realizó por la X^2 usando tablas de contingencia 2x2 y la corrección de Yates para continuidad. El valor de P fue obtenido por la prueba P exacta de Fisher's y fue corregida multiplicando por el número de especificidades HLA estudiadas (14).

RESULTADOS

Las principales características clínicas y bioquímicas de los pacientes con PPT y de los controles con enfermedad de Graves se presentan en la tabla I. Los 14 pacientes con PPT (13 varones y 1 mujer), fueron diagnosticados y seguidos desde 1990. La edad promedio de los pacientes con Graves y PPT fue de 27.7 años (rango de 21-50). Cinco de los 14 pacientes fueron diagnosticados con hipertiroidismo con un promedio de 26.4 meses antes del desarrollo de parálisis periódica. En 6 de los 14 pacientes el diagnóstico de hipertiroidismo fue hecho después del inicio de la PPT (con un promedio de 4.8 meses). En tres casos, la PPT y el hipertiroidismo fueron diagnosticados simultáneamente.

La severidad de la parálisis varió de paraparesia de miembros inferiores a cuadriplejía y sólo un caso presentó involucramiento de músculos de la respiración. Los 14 pacientes tenían hipokalemia durante los episodios agudos de parálisis periódica, sin embargo el nivel de potasio sérico varió ampliamente de 1.3 a 3.3 mEq/L.

El grado de hipokalemia no correlaciono con la severidad de la parálisis. En todos los pacientes el diagnóstico de hiperoidismo fue bioquímicamente

confirmado (tabla I). Todos los pacientes fueron inicialmente tratados con remplazo de potasio (KCL) con mejoría de sus síntomas neuromusculares. Los episodios de parálisis no recurrieron una vez que volvieron al estado eutiroides por medio del tratamiento con yodo radioactivo o metimazol.

Ocho de los pacientes con hipertiroidismo por enfermedad de Graves y PPT se les realizó pruebas serológicas para HLA y fueron comparados con un grupo de 10 pacientes con hipertiroidismo por enfermedad de Graves sin PPT. Los pacientes con enfermedad de Graves sin PPT tuvieron una frecuencia incrementada de HLA-DR3, comparada con la población general adulta sana mexicana (60% vs 9.4%, RR:6.4, PC:<0.01). En contraste, los pacientes con enfermedad de Graves y PPT, tuvieron una frecuencia para HLA-DR3, comparable con la población general adulta sana mexicana (25% vs 9.4%, NS). No se encontró asociación con otro tipo de antígeno HLA de clase I y II en nuestros pacientes con enfermedad de Graves con o sin PPT, (Tabla II).

DISCUSION

La PPT es una condición predominantemente descrita en pacientes varones orientales con hipertiroidismo (1,4). Aproximadamente 90% de los casos reportados son del Japón (15), en donde la PPT ocurre en el 2% de los casos de hipertiroidismo (4). Esta enfermedad es muy rara en caucásicos y negros (3). La PPT se ha reportado también con relativa frecuencia en grupos étnicos con cierto grado de mezcla genética nativo-americana, tales como los indios nativos de Estados Unidos y la población mestiza mexicana (tanto en EU como en México) (6,17). Similar a lo que ocurre en la población oriental, el tipo de hipertiroidismo en todos nuestros casos de PPT fue la enfermedad de Graves. También similar a lo que ocurre en los reportes orientales, todos nuestros casos de PPT ocurrieron en hombres. Lo anterior es interesante dado el conocido predominio femenino de enfermedad de Graves (18).

La enfermedad de Graves se asocia a ciertos antígenos HLA, incluyendo moléculas de clase I y II (19). La frecuencia de HLA-DR3 en pacientes caucásicos con enfermedad de Graves es de aproximadamente el 60% (19). Los haplotipos HLA-Bw46 y Bw46/40 son frecuentes en pacientes chinos con

Graves independientemente de si se presentan con PTT o no (9). Así mismo, se ha observado una elevada frecuencia de HLA-DRw8 en pacientes japoneses con PTT (10). En nuestro estudio, no encontramos tales asociaciones con HLA-Bw46/B40 o HLA-DRw8. En concordancia con otros estudios, nuestros pacientes con Graves sin PTT tuvieron una alta frecuencia de HLA-DR3. Sin embargo, esta asociación se perdió en aquellos pacientes con Graves que habían desarrollado PTT. Evidentemente, nuestros datos serológicos no pueden establecer una relación causal definitiva entre la ausencia de HLA-DR3 y el desarrollo de PTT.

CONCLUSIONES

- Consistentemente con otros estudios, nuestros pacientes con enfermedad de Graves sin PPT tiene un alta frecuencia de antígenos HLA-DR3.
- Sin embargo, esta asociación se pierde en los pacientes con enfermedad de Graves que desarrollan PPT.
- Evidentemente, nuestros datos serológicos no pueden establecer una relación causal definitiva entre la pérdida de HLA-DR3 y el desarrollo de PPT en pacientes con enfermedad de Graves.

BIBLIOGRAFIA

1. MacFadzean AJS, Yeung R. 1967 Periodic paralysis complicating thyrotoxicosis in Chinese. *Br. Med J.* 1451-5.
2. DeLong RG, Adams RD. 1991 The neuromuscular system and the brain in the thyrotoxicosis. In: Braverman LE, Utiger RD. eds. *Werner's and Ingbar's The thyroid a clinical and fundamental text.* 6th edition, Philadelphia, JB Lippincott Company; 793-802.
3. Ober PK. 1992 Thyrotoxicosis periodic paralysis in the United States. Report of 7 cases and review of the literature. *Medicine* 71: 190-20.
4. Okinaka S, Shizume K, Lino S, Watanabe A, Irie M, Noguchi A, Kuma K, Ito T. 1957 The association of periodic paralysis and hyperthyroidism in Japan. *J. Clin Endocrinol Metab.* 17:1454-9.
5. Bernard JD, Larson MA, Norris FH Jr. 1972 Thyrotoxic periodic paralysis in California of Mexican and Filipino ancestry. *Calif Med.* 116:70-4
6. Gutiérrez J, Larios PO, Valdés E, Barajas E, Jiménez JM, Olivares L. 1979 parálisis periódica por tirotoxicosis: Informe de 2 casos. *Rev Invest. Clin (Mex).* 31:263-9.
7. Saeian KI, Heckerling PS. 1988 Thyrotoxic periodic paralysis in a Hispanic man. *Arch Intern Med.* 148:708.

8. Yeo PPB, Chan SH, Lui KF, Wee GB, Lim P, Cheah JS. 1978 HLA and thyrotoxic periodic paralysis. *Br Med J* 2:930.
9. Hawkins BR, Ma JTS, Lam KCL, Wang CCL, Yeung RTT. 1985 Association of HLA antigen with thyrotoxic Graves' disease and periodic paralysis in Hong Kong Chinese. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 23:245-52.
10. Tamai H, Tanaka K, Komaki G, Matsubayashi S, Hirota Y, Mori K, Kuma K, Kumagai LF, Nagataki S. 1987 HLA and Thyrotoxic periodic paralysis in Japanese patient. *J Clin Endocrinol Metab*. 64:1075-8.
11. Tarasaki, PI, Bernoco D, Park MS, et al. 1978 Microdroplet testing for HLA-A,B and D antigens. *Am J Clin Pathol*. 69:103-20.
12. Julius MHE, Simpson E, Herzenberg LA. 1973 A rapid method for isolation of functional thymus-derived murine lymphocytes. *Eur J Immunol*. 3:645-9.
13. Svejgard A. and Ryder LP. (1979) Disease associations. In *Histocompatibility Techniques*, eds. A.M. Die and F. Kissmeyer-Nielsen, pp. 185-205, Elsevier, Amsterdam.
14. Svejgard A. and Ryder L.P. (1994) HLA and diseases association: Detecting the strongest association. *Tissue Antigens* 43, 18-27.
15. Engel AG. 1961 Thyroid function and periodic paralysis. *Am J Med*. 30:327-33.

16. Tinker TD, Vinnatta JB. 1987 Thyrotoxic hypokalemic periodic paralysis: Report of 4 cases and review of the literature. *J Okla State Med Assoc.* 80:11-15
17. Ariza-Andraca CR, Frati-Murati AC, Ceron E, Chávez de Los Ríos JM, Martínez-Mata J. 1993 Parálisis periódica hipokalemica primaria. Presentación de 18 casos. *Gac. Med Mex.* 129:139-44.
18. Volpe R, 1991 Graves' disease. In: Braverman LE, Utiger RD, eds. *Werner's and Ingbar's The Thyroid a clinical and fundamental Text.* 6th eds. Philadelphia: JB Lippincott Company; 648-57.
19. Volpe R. 1989. Autoimmune thyroid disease. In: Burrow GN, Oppenheimer JH, Volpe R, eds. *Thyroid function and disease.* Philadelphia: WB Saunders; 214.
20. Lavalley C, Alarcón-Segovia D, Del Giudice-Knipping JA, Fraga A. 1981 Association of Behcet' syndrome with HLA-B5 in the Mexican Mestizo population. *J Rheumatol.* 8:325-7.

**Tabla I:
Características clínicas y bioquímicas de los pacientes**

	<u>PPT (n=8)</u>	<u>Graves (n=10)</u>
Sexo (hombre/mujer)	7/1	0/10
Edad promedio (rango)	28.1 (21-40)	20.9 (19-44)
Músculos afectados		
• Paraplejia	3	--
• Cuadriplejia	5	--
• Generalizado	1	--
T4 (prom ± DE)	21.4 ± 4.2 mcg/dl	22 ± 2.3 mcg/dl
T3 (prom ± DE)	383.4 ± 109 ng/dl	536 ± 161 ng/dl
T4 libre (prom ± DE)	6.2 ± 1.9 ng/dl	6.7 ± 1.9 ng/dl
TSH (prom ± DE)	0.12 ± 0.04 mUI/L	0.17 ± 0.1 mUI/L
Potasio (prom ± DE)	2.5 ± 0.8 mEq/L	4.4 ± 0.5 mEq/L

**Tabla II:
Frecuencia de distintos antígenos HLA**

	<u>PTT</u>	<u>Graves</u>
HLA-A1	3	3
HLA-A2	4	6
HLA-A24	2	1
HLA-Bw4	4	4
HLA-Bw6	7	6
HLA-B49	1	0
HLA-B51	1	4
HLA-DR3	2**	6*
HLA-DR4	4	4
HLA-DR7	2	2
HLA-DR8	1	0

* 60% vs. 9.4% en la población adulta mexicana sana (RR 6.4, PC < 0.01)

** 25%, NS comparado con la población adulta mexicana sana