



Place of thyroglobulin antibodies assay in laboratory diagnostic of autoimmune thyroid diseases

Ewa Jastrzębska-Bohaterewicz, Wanda Wojciechowska, Andrzej Gardas

Department of Clinical Biochemistry, Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw, Poland

Summary

Tyroglobulin and thyroid peroxidase antibodies have been estimated in patients with thyroid autoimmune diseases. In a group of 109 patients with Hashimoto's thyroiditis 85.53% and 78.89% were positive for Tyroglobulin antibodies and anti-TPO antibodies respectively. The anti-Tg antibodies has not been detected in 14.67% and anti-TPO in 21.1% patients. Both antibodies have not been detected in 1.83% of patients.

In a group of 79 patients with Graves' disease 62.02 and 91.13% were positive for anti-Tg and anti-TPO antibodies respectively. The anti-Tg antibodies has not been detected in 37.97% and anti-TPO in 8.66% patients. Both antibodies have not been detected in one patients with exophthalmos (1.26%). Our results indicate that anti-tyroglobulin

antibodies should be estimated only in patients suspected for thyroid autoimmune disease and negative for thyroid peroxidase antibodies.

(Pol J Endocrinol 2005; 1(56): 30-34)

Key words: thyroglobulin antibodies, autoimmune disease, diagnostic test



Andrzej Gardas
Department of Clinical Biochemistry,
Medical Center of Postgraduate Education,
01-813 Warsaw. Marymoncka 99, Poland

Miejsce oznaczeń poziomu przeciwciał anty-tyreoglobulinowych w diagnostyce autoimmunologicznych chorób tarczycy

Ewa Jastrzębska-Bohaterewicz, Wanda Wojciechowska, Andrzej Gardas

Zakład Biochemii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Streszczenie

Oznaczano poziom przeciwciał anty-tyreoglobulinowych (anty-Tg) i anty-peroksydazowych (anty-TPO) u pacjentów z autoimmunologicznymi chorobami tarczycy, celem określenia przydatności oznaczania poziomu przeciwciał anty-tyreoglobulinowych w diagnostyce laboratoryjnej chorób autoimmunologicznych tarczycy.

W grupie 109 pacjentów z chorobą Hashimoto przeciwciała anty-Tg wykryto u 85,53% a anty-TPO u 78,89%. Przeciwciała anty-Tg nie występowały u 14,67% a anty-TPO u 21,1% pacjentów. U 1,83% pacjentów nie wykryto obydwu typów autoprzeciwciał

W grupie 79 pacjentów z chorobą Graves-Basedowa przeciwciała anty-Tg wykryto u 62,02% a anty-TPO u 89,87%. Przeciwciała anty-Tg nie występowały u 37,97% a anty-TPO u 10,12% pacjentów. Jeden pacjent z wytrzeszczem (1,26%) nie posiadał obydwu typów autoprzeciwciał. Nasze dane wskazują na celowość oznaczania poziomu autoprzeciwciał anty-tyreoglobulinowych (anty-Tg) tylko u pacjentów z podejrzeniem wystąpienia choroby autoimmunologicznej

tarczycy u których nie występują przeciwciała anty-peroksydazowe (anty-TPO).

(Endokrynol Pol 2005; 1(56): 30-34)

Słowa kluczowe: przeciwciała anty-tyreoglobulinowe, choroba autoimmunologiczna



Andrzej Gardas
Zakład Biochemii Klinicznej CMKP
01-813 Warszawa, Marymoncka 99

Praca została wykonana w ramach grantu KBN 2 PO5A 083 27

Wstęp

Ostatnie zalecenia National Academy of Clinical Biochemistry [1] i prace duńskie [2, 3] wskazują na niecelowość oznaczeń poziomu autoprzeciwciał antytyreoglobulinowych u pacjentów z autoimmunologicznymi chorobami tarczycy z wyjątkiem terenów niedoboru jodu. Odmienny pogląd prezentują prace z ośrodków japońskich (największa dobową podaż jodu) które wskazują na dobrą korelację poziomu przeciwciał anti-Tg z wynikami biopsji i obrazem ultrasonograficznym [4, 5, 6]. Również Toyoda et al. [7] wykazują na wysoką użyteczność oznaczania poziomu przeciwciał anti-Tg w monitorowaniu subklinicznej niedoczynności tarczycy, poporodowego zapalenia tarczycy i leczenia interferonem. Podobnie Lindberg et al. [8] wskazują na użyteczność oznaczania przeciwciał anti-Tg u dzieci i młodzieży w diagnostyce autoimmunologicznych schorzeń tarczycy.

W naszej pracy chcieliśmy przebadąć celowość oznaczania poziomu przeciwciał anti-Tg u pacjentów z chorobą Hashimoto i chorobą Graves-Basedowa z terenu Mazowsza.

Materiały i metody

Pacjenci pochodzili z Miejskiego Szpitala w Siedlcach, diagnoza była oparta na klasycznych badaniach klinicznych i laboratoryjnych oznaczeniach poziomu TSH, fT₄, fT₃ i przeciwciał antytarczycowych w surowicy krwi. Surowice pobierano tylko celem oznaczeń parametrów tarczycy i przechowywano w -70°C. Diagnoza była weryfikowana po 6 miesiącach leczenia u 85% pacjentów, 15% pacjentów zostało straconych z obserwacji.

Poziom autoprzeciwciał antytyreoglobulinowych (anty-Tg) i antytyreoperoksydazowych (anty-TPO) wykonywano jak opisano uprzednio [9, 10]. W skrócie płytki polistyrenowe firmy COSTAR opłaszczane antygenem (1 µg/ml) w buforze węglanowym o pH=9,6 inkubowano z rozcieńczoną surowicą 200 razy w roztworze TBS (roztwór soli fizjologicznej buforowanej trisem) z dodatkiem 0,1% Tweenu-20 i albuminy wołowej 1 mg/ml. Po 60 minutowej inkubacji płytki płukano czterokrotnie roztworem TBS z dodatkiem Tween-20, 0,1%. Do każdej studzienki płytki dodawano roztwór przeciwciał króliczych anti ludzkie IgG sprzężonych z peroksydazą chrzanową (firmy Sigma) w buforze TBS z dodatkiem Tween-20, 0,1% i BSA 1 mg/ml. Po 60-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej płytki płukano czterokrotnie jak wyżej i dodawano substrat peroksydazy TMB (tetramethylbenzidine) w 0,1M buforze cytrynianowym o pH=4,0 w stężeniu 0,1 mg/ml. Inkubowano z substratem przez 15 minut i reakcję przerywano przez dodanie do każdej studzienki płytki 0,1 ml 1N kwasu siarkowego. Wynik odczytywano

przy długości fali 450 nm. Oznaczenia dla każdej surowicy o poziomie autoprzeciwciał powyżej 2000 IU/ml powtarzano przy rozcieńczeniu surowicy 1000-krotnym lub większym z powodu dużych błędów w górnej części krzywej standardowej. Oznaczenia standaryzowano według standardu WHO International Laboratory for Biological Standards, National Institute for Biological Standard and Control dla anti-Tg nr 65/93 i dla anti-TPO nr 66/387. Jako poziom odcięcia surowic negatywnych od pozytywnych przyjęto 100 IU/ml dla obydwu typów autoprzeciwciał

Wyniki

Poziom autoprzeciwciał u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi waha się w bardzo szerokich granicach i tak u pacjentów z chorobą Hashimoto [93] u których stwierdzono występowanie przeciwciał anti-Tg ich poziom wynosił od 105 IU/ml do 170550 IU/ml, średnia arytmetyczna 6020 IU/ml, mediana 374 IU/ml, odchylenie standardowe 21109 IU/ml a współczynnik zmienności 350%. Poziom przeciwciał anti-TPO u tych samych pacjentów zawierał się w granicach od 140 IU/ml do 12000 IU/ml, średnia arytmetyczna 1554 IU/ml, mediana 854 IU/ml, odchylenie standardowe 2004 IU/ml a współczynnik zmienności 128% (tabela I).

Poziom autoprzeciwciał anti-Tg u pacjentów z chorobą Graves-Basedowa wynosił od 103 IU/ml do 118090 IU/ml, średnia arytmetyczna 3731 IU/ml, mediana 288 IU/ml, odchylenie standardowe 16813 IU/ml a współczynnik zmienności 450%. Poziom przeciwciał anti-TPO wahał się od 100 IU/ml do 13247 IU/ml, średnia arytmetyczna 2136 IU/ml, mediana 684 IU/ml, odchylenie standardowe 4234 IU/ml, a współczynnik zmienności 198% (tabela II).

W grupie 109 pacjentów z chorobą Hashimoto przeciwciała anti-Tg występowały u 93 pacjentów (85,53%), przeciwciała anti-TPO u 86 pacjentów (78,89%), przeciwciała anti-Tg nie stwierdzono u 16 pacjentów (14,67%) a przeciwciała anti-TPO nie stwierdzono u 23 pacjentów (21,1%), u dwóch pacjentów (1,83%) nie wykryto obydwu typów autoprzeciwciał. U 21 pacjentów (19,26%), u których nie wykryto przeciwciał anti-TPO stwierdzono obecność przeciwciała anti-Tg. U 14 pacjentów (12,84%), u których nie stwierdzono przeciwciał anti-Tg, wykryto obecność przeciwciał anti-TPO (tabela III).

W grupie 79 pacjentów z chorobą Graves-Basedowa przeciwciała anti-Tg występowały u 49 pacjentów (62,02%), przeciwciała anti-TPO u 71 pacjentów (89,87%), brak było przeciwciał anti-Tg u 30 pacjentów (37,97%) a przeciwciała anti-TPO brak było u 8 pacjentów (10,12%). U jednego pacjenta z wytrzeszczem (1,26%) nie występowały przeciwciała skierowane do obydwu antygenów.

Tabela I.*Poziom autoprzeciwciał u 50 pacjentów z chorobą Graves-Basedowa*

Nr pacjenta	Poziom autoprzeciwciał w IU/ml	
	Anty-Tg	Anty-TPO
2	116	684
7	844	39
11	961	292
14	79	391
18	1362	3166
22	677	282
24	3074	7892
39	150	160
41	130	30
44	30	13247
46	130	220
51	150	270
66	30	230
68	11585	28000
71	595	280
74	89	1075
77	19710	450
88	180	110
93	920	30
110	160	547
111	118090	847
108	38	2471
117	38	1020
118	47	390
122	250	458
124	30	2500
126	38	42
127	81	1141
128	230	1941
132	103	1816
137	69	760
138	51	1150
141	60	190
164	82	624
166	33	538
168	30	480
172	31	2745
173	812	360
175	69	731
176	736	2500
177	284	67
201	65	353
201	51	1010
204	5038	10636
226	1888	50
238	41	102
251	30	245
260	30	169
261	42	959
264	30	344

Tabela II.*Poziom autoprzeciwciał u 50 pacjentów z chorobą Hashimoto.*

Nr pacjenta	Poziom autoprzeciwciał w IU/ml	
	Anty-Tg	Anty-TPO
3	653	449
6	2828	1488
12	143	662
20	362	944
21	124	1352
40	109	450
45	230	300
47	240	250
55	2500	3484
59	300	1440
62	30	150
69	158	580
72	12	30
75	2130	340
76	127	2500
79	69	12000
80	263	250
81	1180	280
82	800	380
83	30	180
95	2160	320
102	320	90
107	1100	1785
115	45	380
121	66655	5370
125	150	30
130	1100	90
131	115	30
133	2500	2500
136	49068	600
139	280	325
140	55	2700
142	320	1300
144	52	208
145	354	673
146	170550	6500
149	2520	1942
167	119	881
180	1465	10
4195	1344	74
203	77	1950
205	26250	4435
206	62	1050
223	606	30
234	182	705
237	610	685
246	126	1210
252	36	208
256	1450	544
259	308	1359

Tabela III.

Przeciwciała anti-Tg i anti-TPO u pacjentów z chorobą Graves-Basedowa i chorobą Hashimoto.

Przeciwciała	Choroba Graves-Basedowa, n=79		Choroba Hashimoto, n=109	
	Liczba pacjentów	%	Liczba pacjentów	%
Anti-Tg (+)	49	62,02	93	85,53
Anti-TPO (+)	71	89,87	86	78,89
Anti-Tg (-)	30	37,97	16	14,67
Anti-TPO (-)	8	10,12	23	21,10
Anti-Tg (-) i Anti-TPO (-)	1	1,26	2	1,83
Anti-Tg (+) i anti-TPO (-)	7	8,86	21	19,26
Anti-Tg (-) i Anti-TPO (+)	29	36,70	14	12,84

U 29 pacjentów u których nie wykryto obecności przeciwciał anti-Tg (36,7%) stwierdzono obecność przeciwciał anti-TPO. U 7 pacjentów (8,86%) u których nie wykryto przeciwciał anti-TPO stwierdzono obecność przeciwciał anti-Tg, Tabela III.

Dyskusja

Wydaje się, że ze względów ekonomicznych podstawowym autoprzeciwciałem oznaczanym w chorobach autoimmunologicznych tarczycy powinny być przeciwciała anti-peroksydazowe (anti-TPO) zgodnie z zaleceniami National Academy of Clinical Biochemistry [1]. Przeciwciała anti-TPO są uznawane za najczulszy wskaźnik procesu autoimmunologicznego w tarczycy [11, 12].

Przedstawione wyniki wskazują jednak, że zalecenie National Academy of Clinical Biochemistry [1] i prace duńskie [2, 3] zalecające rezygnację z oznaczania poziomu przeciwciał anti-tyreoglobulinowych (anti-Tg) u wszystkich pacjentów z autoimmunologicznymi schorzeniami tarczycy odnoszą się tylko do niektórych rejonów geograficznych i w rejonie Mazowsza, przynajmniej w części przypadków, wskazane jest również oznaczanie poziomu przeciwciał anti-tyreoglobulinowych (anti-Tg). Wyniki nasze wskazują, że oznaczenia poziomu przeciwciał anti-Tg powinny być wykonywane u pacjentów, u których nie wykryto przeciwciał anti-TPO a równocześnie istnieje podejrzenie choroby autoimmunologicznej tarczycy. Przyjmując taki system postępowania diagnostycznego potwierdzimy obecność procesu autoimmunologicznego w tarczycy u 19,26% pacjentów z chorobą Hashimoto i 8,86% pacjentów z chorobą Graves-Basedowa, u których nie wykryto przeciwciał anti-peroksydazowych. Również nasze wyniki wskazują, że równoczesne oznaczanie obydwu typów przeciwciał (anti-TPO i anti-Tg) jest niewskazane ze względów ekonomicznych, wykrycie przeciwciał anti-tyreoglobulinowych u pacjentów z obecnymi przeciwciałami anti-peroksydazowymi (anti-TPO) nie dostarcza istotnych informacji diagnostycznych a znacznie podwyższa koszty diagnostyki. Występowanie przeciwciał anti-tarczycowych wskazuje przede wszystkim na

toczący się proces autoimmunologiczny i według większości autorów nie rozstrzyga o rodzaju schorzenia i nie ma wartości prognostycznej [13, 14, 15]. Chociaż u części pacjentów zmiana w poziomie autoprzeciwciał w surowicy dobrze koreluje z aktywnością choroby.

Dane nasze natomiast nie zaprzeczają wysokiej użyteczności oznaczeń przeciwciał anti-Tg w poporodowym zapaleniu tarczycy, monitorowaniu leczenia interferonem, amiodaronem lub litem i bezwzględnej konieczności ich oznaczania we wszystkich przypadkach oznaczania poziomu tyreoglobliny jako markera wznowy zróżnicowanych nowotworów tarczycy, zgodnie z zaleceniami National Academy of Clinical Biochemistry [1]. Często wzrost poziomu przeciwciał anti-Tg jest pierwszym sygnałem nawrotu choroby [16].

W naszej pracy niewielka część pacjentów z autoimmunologicznymi chorobami tarczycy nie wykazywała zarówno obecności przeciwciał anti-TPO jak i anti-Tg, 1,83% w chorobie Hashimoto i 1,26% w chorobie Gravesa, dane te są zgodne z pracami innych autorów którzy również opisują przypadki chorób autoimmunologicznych tarczycy bez autoprzeciwciał [17].

Piśmiennictwo

1. Demers LM, Spencer CA. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. National Academy of Clinical Biochemistry <http://www.nacb.org> 2002;1:125.
2. Feldt-Rasmussen U, Hoier-Madsen M, Bech K et al. Anti-thyroid peroxidase antibodies in thyroid disorders and non-thyroid autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991; 9: 245-253.
3. Ericsson UB, Christensen SB, Thorell JI et al., A high prevalence of thyroglobulin autoantibodies in adults with and without thyroid disease as measured with a sensitive solid-phase immunosorbent radioassay. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 37: 154-162.
4. Takamatsu J, Yoshida S, Yokozawa T et al. Correlation of antithyroglobulin and antithyroid-peroxidase antibody profiles with clinical and ultrasound characteristic of chronic thyroiditis. *Thyroid* 1998; 8: 1101-1106.
5. Kasagi K, Kousaka T, Higuchi K et al. Clinical significance of measurements of antithyroid antibodies in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis: comparison with histological findings. *Thyroid* 1996; 6: 445-456.

6. Senda Y, Kawai NM, Mizukami Y, et al., Estimation of anti-thyroid peroxidase autoantibody (TPOAb) and anti-thyroglobulin autoantibody (TgAb) in patients with various thyroid disease - comparison between histopathological findings and serological results in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Jap J Clin Pathol*. 1995; 43: 1243-1250.
7. Toyoda N, Nishikawa M, Iwasaki T. Anti-thyroglobulin antibodies *Jap J Clin Medicine* 1999; 57: 1810-1814.
8. Lindberg B, Svensson J, Ercsson UB et al., Comparison of some different methods for analysis of thyroid autoantibodies: importance of thyroglobulin autoantibodies. *Thyroid* 2001; 11: 265-269.
9. Gardas A, Bauer A. Immunoenzymatyczna metoda oznaczania autoprzeciwciał reagujących z peroksydazą tarczycową. *Diagnostyka Laboratoryjna* 1995; 31:43-49.
10. Gardas A, Bauer A. Immunoenzymatyczna metoda oznaczania poziomu autoprzeciwciał anty-tyreoglobulinowych w surowicy krwi. *Endokrynologia Polska* 1987; 38: 233-241.
11. Mariotti S, Caturgeli P, Piccolo P et al. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 35-40.
12. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD et al. Serum TSH T4 and thyroid antibodies in the USA population (1988-1994) National Health and Nutrition Survey. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:489-499.
13. Lavard L, Perrild H, Jacobsen BB et al. Prevalence of thyroid peroxidase, thyroglobulin and thyrotropin receptor antibodies in a long-term follow-up of juvenile Graves' disease. *Autoimmunity* 2000; 32: 267-172.
14. Gardas A, Blottner A, Domek H. Comparison of autoantibodies level in thyroid autoimmune disease estimated by different methods. *Exp Clin Endocrinol* 1988; 92: 77-84.
15. Feldt-Rasmussen U, Schleusener H, Caryon P. Meta-analysis evaluation of the impact of thyrotropin receptor antibodies on long term remission after medical therapy of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 980-103.
16. Spencer CA, Wang C, Fatemi S et al. Serum thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1121-1127.
17. Weetman AP, McGregor AM. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocrine Reviews* 1994; 15: 788-830.