

UDK 616.441-097  
COBISS.SR-ID 259925772

ISSN 0350-2899. - God. 42, br. 4 (2017), str. 206-208.

## ODREĐIVANJE ANTITELA NA TIREOCITNU PEROKSIDAZU - METODOLOŠKI ASPEKTI I PRIPREMA ZA KLINIČKU PRIMENU

## DETECTION OF THYROID PEROXYDASE ANTIBODIES - METHODOLOGY AND PREPARATION FOR CLINICAL APPLICATION

*Nebojša Paunković, Džejn Paunković*

POLIKLINIKA „PAUNKOVIĆ“, ZAJEČAR

**Sažetak:** Antitela na tireocitnu peroksidazu (TPOAb) javljaju se u povišenom titru kod obolelih od autoimunih tireoidnih oboljenja. Cilj ovog rada je da prikazemo naša iskustva u primeni nekoliko metoda za određivanje TPOAb, a kod dve od ovih prikazemo i vrednosti u praćenju obolelih. Koristili smo metode za određivanje TPOAb firme BRAHMS, sada Thermo, firme Roche, Cobas, firme Beckman Coulter i firme Monobind, USA. Od preko 500 obolelih od hipotireoze kod 40 otpočeta je „follow up“ studija koja je završena kod 30 ispitanika. Naši preliminarni zaključci su: metode sa kojima imamo najviše iskustava daju relativno pouzdane podatke za TPOAb. Međutim, sam parametar, odnosno vrednost antitela na tireoidnu peroksidazu, nije dovoljno stabilan da bi se reklo da neki lekovi i lekovita sredstva pouzdano utiču na njega.

**Ključne reči:** antitela na tireoidnu peroksidazu, metode, imunološka oboljenja štitaste žlezde

**Summary:** In patients with autoimmune thyroid diseases thyroide peroxidase antibodies (TPOAb) are detected in high titer. The aim of this study is to present our experience in use of several methods for the detection of TPOAb; in two of them we presented data obtained in follow up testing. For the detection of TPOAb we used the methodology of BRAHMS company, now known as Thermo, as well as the methodology of the following companies - Roche, Cobas, Beckman Coulter and Monobind, USA. The follow up studies were carried out on 30 hypothyroid patients out of over 500 tested. Our interim conclusions are: if we have previous experience in the methodology used, the results of detection of TPOAb are relatively reliable. However this parameter itself is not stable enough to allow us to come to a conclusion that some drugs and therapeutic substances have any influence on it.

**Key words:** antibodies to thyroid peroxidase, methods, immunologic thyroid diseases

### UVOD

Tireocitna peroksidaza (TPO) je enzim koji ima ulogu u biosintezi tireoidnih hormona (katalizuje oksidaciju jodida na tirozilske ostatke u tireoglobulinu) [1]. U toku destruktivnih procesa štitaste žlezde on kao autoantigen inicira nastanak antitela (TPOAb) [2]. Ova autoantitela koriste se u praksi kao marker autoimunih bolesti tireoideje [3]. Nalaze se (u nižem titru) i kod nekih drugih autoimunih (netireoidnih) stanja [4].

Autor je prvi put objavio svoja iskustva 1985. [5], a publikovao ih u inostranom časopisu 1998. godine [6].

Tih prvih godina klinička primena je bila jako restriktivna – radilo se sa vrlo skupim,

uvoznim reagensima, pa su i iskustva raznih tireoidnih institucija bila skromna.

U poslednjih nekoliko godina pružena je prilika ustanovama, istraživačima i praktičnim lekarima da steknu svoja iskustva u kliničkoj primeni pomenutog parametra. Međutim, odmah se zapazilo da je gotovo nemoguće porediti rezultate dobijene različitim metodama (korišćenje raznih „kitova“), da sve imaju svoje „referentne vrednosti“ koje se često jako razlikuju, da u uputstvima za rad obično nema pravih objašnjenja o parametru koji se određuje, itd.

Cilj ovog rada je da prikazemo naša iskustva u primeni nekoliko metoda za određivanje TPOAb, a kod dve od ovih prikazemo i vrednosti u praćenju obolelih sa

ciljem da se utvrdi da li je taj metod podesan za kliničku primenu, uticaj nekih lekova na njega itd.

#### METODE

Za određivanje TPOAb koristili smo metode sledećih proizvođača: firme BRAHMs, sada Thermo, firme Roche, Cobas, firme Beckman Coulter, i firme Monobind, USA.

*BRAHMS metoda (anti-TPO DYNtest, Henning, Berlin)* koristi enzimski aktivnu prirodnu TPO iz humanih tireoideja. Prepoznaje sve klase i podklase antitela. TPO antigen koji se koristi u ovom kompetitivnom eseju je indirektno obeležen luminescentnim antitelom. Granica razgraničenja između pozitivnih i negativnih nalaza za TPOAb je 60 U/ml. Standardizacija je izvršena prema MRC standardu NIBSC 65/93.1000 IU/ml NIBSC 65/93 ekvivalentno je 3500 U/ml.

BRAHMs ovu metodu koristili smo od 2008-2016. godine, uradili smo 983 određivanja. Uglavnom smo je primenjivali kada je trebalo potvrditi dijagnozu hipotireoze (spontana tireoidna atrofija, Hashimoto tireoiditis) ili kada je trebalo da se isključe ova stanja.

#### *Elecsys Anti-TPO, COBAS, Roche*

Pozitivan nalaz > 34 U/ml. Uradjena 184 uzorka.

U vremenu između 2012. i 2016. godine, u doba kada nismo imali „kitove“ naših stalnih dobavljača, uzorke smo slali u firmu Novamed u Beogradu. Iako je sa ovom firmom uspostavljen korektan i kvalitetan odnos, ovakva vrsta ispitivanja zahteva sopstvenu laboratoriju. Prospektivni materijal koji je mogao da se dobije nije za ozbiljno korišćenje, u njemu nema podataka o načinu dobijanja reagenasa itd. Mogli smo, uglavnom, da iskoristimo podatke za „follow-up“ studiju kod nekoliko pacijenata.

#### *Firma Beckman Coulter,*

Granična vrednost je 9 IU/ml. Kalibrisanje je izvršeno prema internacionalnom standardu SZO 66/387. Metoda se primenjuje u Zdravstvenom centru u Zaječaru, sa njom

nemamo ličnih iskustava – dolaze nam često pacijenti sa tim nalazima.

#### *Monobind Inc.- Lake Forest, CA 92630*

USA

Monobind mikroplate Hemiluminescentni imunotest. Granična vrednost je 40.

Metodu smo počeli pre godinu dana, uradili smo 400 uzoraka. Započeli smo kod 40 bolesnika follow-up, na 2-3 meseca a završili ga kod 30.

#### REZULTATI

U poslednjih 11 godina, koliko postoji naša Poliklinika, određivanje TPOAb vršili smo primenom metoda BRAHMs, 983 uradjena testiranja; firme Roche, Cobas 184; firme Beckman Coulter, desetak; i firme Monobind 400 uzoraka

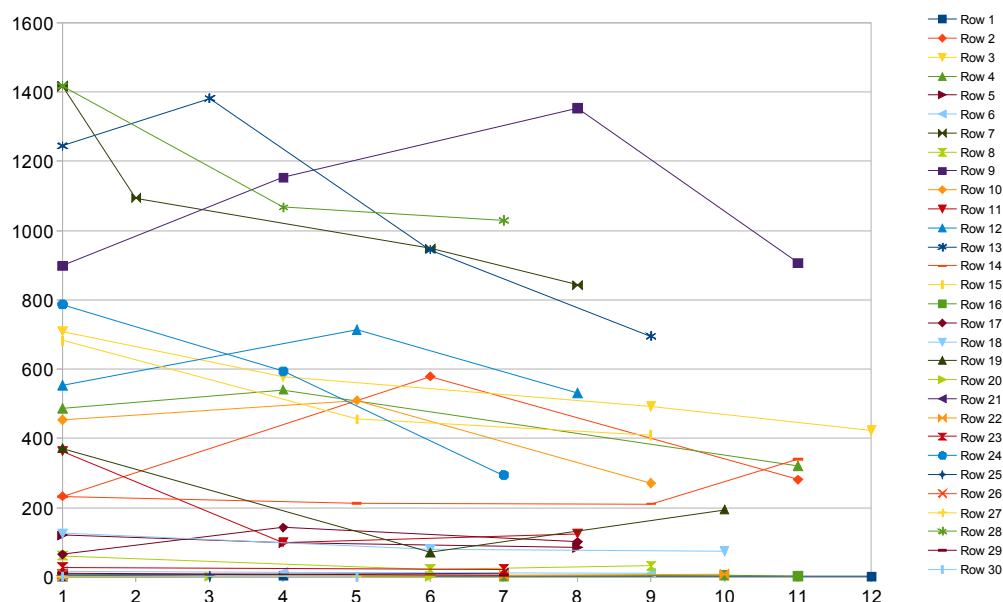
U laboratoriji koja je u sklopu naše poliklinike radjena je samo prva i poslednja metoda. U davna vremena, dok smo radili u Službi za nuklearnu medicinu, određivali smo i Mikrozomska antitela radioimunološkim kompletom firme Biodata.

Metodu smo koristili za potvrđivanje autoimune hipotireoze (sa ili bez strume) ili za isključivanje istih oboljenja.

Poslednje godine smo obradili rezultate koje smo dobili kod istih pacijenata u toku praćenja bolesti (follow-up). Hteli smo da vidimo da li je moguće da, prateći trend ovog parametra (TPOAb), isti primenimo i za procenu uticaja nekih lekova ili suplemenata (na primer selen), jer se pojavilo više članaka koji se time bave [7, 8, 9]. Naravno, parametar koji testiramo mora da bude relativno stabilan i kada mu se ne dodaje lek, odnosno ako su bolesnici samo supstituisani tiroksinom.

Rezultate u toku supstitucione terapije hipotireoze uradili smo kod dve grupe pacijenata, primenjujući metodu anti-TPO DYNtest, Henning, Berlin, i Monobind, Lake Forest, CA 92630 USA. Prva grupa je imala 10 pacijenata, praćenih po 3 meseca (Henning), a druga 30 (Monobind). U toku praćenja u ovoj drugoj grupi je bilo 12 negativnih, ostali su i u toku 9 meseci, 7 visokih, pali značajno u toku follow-up, 6 umereno povišenih ostali isto, i 2 umerena porasla u toku praćenja. Rezultate ove follow-up studije prikazali smo na grafikonu 1.

Grafikon 1. Određivanje TPOAb kod 30 bolesnika na svaka 3 meseca u toku godine dana  
 Chart 1. Determination of TPOAb in 30 patients every 3 months during a year



### DISKUSIJA

Uradili smo testiranje metoda za određivanje antitela na tireoidnu preroksidazu. Pored dijagnostičke namene, sa ciljem uvida u stabilnost testiranog parametra, kod trideset obolelih smo vršili i praćenje u toku više meseci.

Za sada se nismo uverili da je on dovoljno stabilan da bismo samo na osnovu njegovog kretanja procenjivali uspešnost delovanja neke novouvedene lekovite supstance, ali nam predstoji i dalje praćenje ovog imunološkog markera.

### LITERATURA

1. McLachlan SM, Rapoport B. The molecular biology of thyroid peroxidase: Cloning, expression, and role autoantigen in autoimmune thyroid disease. *Endocrine Rev* 1992; 13:192-206.
2. Portmann L, Hamada N, Heinrich G, DeGroot LJ. Antithyroid peroxidase antibody in patients with autoimmune thyroid disease: possible identity with anti-microsomal antibody. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61:1001-1003.
3. Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, Carayon P, Lissitzky S. Purification of the human thyroid peroxidase and its

identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. *FEBS Letters* 1985;190:147-152.

4. Korkij W, Soltani K, Simjee S, Marcincin PG, Chuang TY: Tissue-specific autoantibodies and autoimmune disorders in vitiligo and alopecia areata: a retrospective study. *J Cutan Pathol* 1984; 11: 522-30.
4. Paunković N, Pavlović O, Paunović R.: Dokazivanje antitireoglobulinskih i antimikrozoinskih antitela u hroničnom limfocitarnom tireoiditisu. Zbornik radova, V jugoslovenski simpozijum o štitastoj žlezdi, Zlatibor, 1985, 167-171.
5. Paunkovic N, Paunkovic J. The significance of TSH receptor antibodies and thyroid microsomal antibodies in Graves' disease. *Thyroidol Clin Exp* 1998; 10:13-17.
6. Mazokopakis E., V.Chatzipavlidou: Hashimoto thyroiditis and the role of selenium. *Current concepts. Hell. J Nucl Med* 2007; 10: 6-8.
7. Duntas L.H, Manzou E, Koutras DA. Effects of a six month treatment with selenomethionine in patients with autoimmune thyroiditis. *European J of Endocrinology* 2003; 148: 389-393.
8. Gartner R., Gasnier BSH, et al. Selenium supplementation in patients with autoimmune thyroiditis decrease thyroid peroxidase antibodies concentrations. *JCEM* 2002; 87: 1687-1691.