

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΝΟΣΟΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΝΤΙΘΥΡΟΕΙΔΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ ΤΟΥ ΙΚΑ

1. Εισαγωγή

1.1 Οι ορμόνες του θυροειδούς

Ο θυροειδής αδένας εκκρίνει κυρίως τρεις ορμόνες, τις T_3 , T_4 και την **καλσιτονίνη**^{1,2}. Οι ορμόνες T_3 (3,5,3' τριϊωδοθυρονίνη) και η T_4 (3,5,3',5' τριιωδοθυρονίνη ή θυροξίνη) παράγονται στο θυλάκιο του θυροειδούς που είναι γεμάτο με μια άμορφη κολλοειδή ουσία. Αντιθέτως η καλσιτονίνη παράγεται από μια άλλη ομάδα κυττάρων του θυροειδούς, τα κύτταρα C. Σε αντίθεση με την καλσιτονίνη που επηρεάζει το μεταβολισμό του ασβεστίου οι ορμόνες T_3 και T_4 επηρεάζουν το μεταβολισμό όλων σχεδόν των ιστών. Έτσι είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική αύξηση του σώματος, τη διανοητική ανάπτυξη και τη γενετήσια ωρίμανση. Επηρεάζουν επίσης την καρδιακή παροχή και τη συχνότητα της καρδιακής λειτουργίας.

Για την **παραγωγή** των θυροειδικών ορμονών T_3 , T_4 είναι απαραίτητα τα ιόντα ιωδίου τα οποία προσλαμβάνονται ενεργητικά από το θυροειδή αδένα και μετατρέπονται γρήγορα σε μοριακό ιώδιο. Η μετατροπή αυτή γίνεται μέσα στα θυλάκια του θυροειδούς με την κολλοειδή ουσία και καταλύεται από το ένζυμο **υπεροξειδάση του θυροειδούς** (Thyroid peroxidase ή TPO). Στη συνέχεια πραγματοποιείται μια σειρά από αντιδράσεις, κατά τις οποίες το ιώδιο συνδέεται με το αμινοξύ τυροσίνη που είναι συστατικό της **θυροσφαιρίνης** (Thyroglobulin ή Tg). Έτσι σχηματίζονται η μονοϊωδοτυροσίνη (MIT) και η διϊωδοτυροσίνη (DIT). Από τη συμπύκνωση των μορίων της MIT και DIT παράγονται οι ορμόνες T_3 (MIT+DIT) και T_4 (DIT+DIT). Οι αντιδράσεις συμπύκνωσης καταλύονται επίσης από το ένζυμο TPO.

Οι T_3 και T_4 μένουν ενσωματωμένες στο μόριο της θυροσφαιρίνης ώσπου να ζητηθεί η έκκρισή τους στην κυκλοφορία. Τότε αποσπώνται με τη βοήθεια πρωτεολυτικών ενζύμων. Στο αίμα, οι T_3 και T_4 φέρονται συνδεδεμένες με πρωτεΐνες: τη σφαιρίνη σύνδεσης με θυροξίνη (TBG), την προαλβουμίνη σύνδεσης με θυροξίνη (TBPA) και την αλβουμίνη. Το ποσοστό σύνδεσης των ορμονών αυτών είναι μεγαλύτερο από 99%. Μόνο το υπόλοιπο κλάσμα 1% που αποτελείται από τις ελεύθερες θυροειδικές ορμόνες FT_3 και FT_4 είναι βιολογικά δραστικό. Η έκκριση των T_3 και T_4 ρυθμίζεται από την ορμόνη TSH. Η υπέρμετρη έκκριση θυροειδικών ορμονών προκαλεί τον **υπερθυροειδισμό** και η ανεπαρκής έκκριση τον **υποθυροειδισμό**. Ο υπερθυροειδισμός και ο υποθυροειδισμός μπορεί να οφείλονται σε αυτοάνοσα αίτια. Παράδειγμα αυτοάνοσων θυροειδίτιδων είναι η νόσος του Graves (υπερθυροειδισμός) και η νόσος του Hashimoto (υποθυροειδισμός). Στις αυτοάνοσες θυροειδίτιδες αυξάνουν στο αίμα τα **αντιθυροειδικά αντισώματα** δηλαδή τα αντισώματα έναντι των πρωτεϊνών Tg και TPO.

1.2 Οι πρωτεΐνες Tg και TPO

Η Tg παράγεται στο θυροειδικό αδένα και αποτελεί βασικό συστατικό του κολλοειδούς των θυροειδικών θυλάκων. Είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 670 KDa η οποία δίνει 40 κατάλοιπα L-τυροσίνης από το σύνολο 140 των θυροειδικών ορμονών T_3 , T_4 ^{1,2,4}.

Η TPO είναι ένα ένζυμο γλυκοπρωτεΐνης, συνδεδεμένο στην κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων του θυροειδικού αδένα. Επειδή βρίσκεται στα μικροσώματα των κυττάρων του θυροειδούς ονομαζόταν παλαιότερα **μικροσωμιακό αντιγόνο** (MC). Αποτελείται από δύο πανομοιότυπες μονάδες μοριακού βάρους περίπου 100 KDa. Η TPO έχει ρόλο κλειδί στη βιοσύνθεση των θυροειδικών ορμονών αφού καταλύει τόσο την ιωδίωση της L-τυροσίνης όσο και τη χημική σύζευξη της μονοϊωδοτυροσίνης και της διϊωδοτυροσίνης

Καρκαλούσος Π., Σαββανή Ο., Σουβατζόγλου Α., «Σύγκριση ανοσοενζυμικών μεθόδων για την ανάλυση αντιθυροειδικών αντισωμάτων σε εργαστήρια του ΙΚΑ», *Ιατρική Επιθεώρηση ΙΚΑ*, Απρ.-Ιουν. 2005, 10,(6):19-26.

προκειμένου να σχηματιστούν οι πρόδρομες ενώσεις των θυροειδικών ορμονών T₃ και T₄. Η αυτοάνοση αντίδραση στην ΤΡΟ θεωρείται ότι είναι πολυκλωνική και ετερογενής από τη φύση της με έξι τουλάχιστον αναγνωρίσιμους αντιγονικούς καθοριστές και περιλαμβάνει τόσο δομικά εξαρτημένους όσο και γραμμικούς επιτόπους⁴.

1.3 Τα αντιθυροειδικά αντισώματα

Τα αντιθυροειδικά αντισώματα ή **ΑΘΑ** είναι αυτοάνοσα αντισώματα της τάξεως των IgG έναντι των Tg και ΤΡΟ αντιγόνων. Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των ΑΘΑ έχει πολύτιμη συνεισφορά στη διάγνωση της αυτοάνοσης θυροειδίτιδας αφού εμφανίζονται και στον υποθυροειδισμό και στον υπερθυροειδισμό. Συγκεκριμένα³:

Τα **αντι-Tg** ανιχνεύονται σε όλα τα αυτοάνοσα νοσήματα του θυροειδούς με τις εξής συχνότητες: θυροειδίτιδα Hashimoto 40-70%, Graves 20-40%, ιδιοπαθής υποθυροειδισμός 10-30%.

Τα **αντι-TPO** ανιχνεύονται με συχνότητα 80-95% σε ασθενείς με θυροειδίτιδα Hashimoto, 50-80% σε ασθενείς με Graves και 50-80% σε ασθενείς με ιδιοπαθή υποθυροειδισμό. Επιπλέον μπορούν να ανιχνευτούν σε ασθενείς με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα όπως σύνδρομο Sjögren (30%), κακοήγη αναιμία (30%), συστηματικό ερυθρεμάτωδη λύκο (20%)⁵ και ιδιοπαθή νόσο του Addison (40%). Αυξημένες τιμές anti-TPO εμφανίζονται ακόμα και σε φυσιολογικά άτομα (2-8%).

Παλαιότερα ο προσδιορισμός των ΑΘΑ γινόταν με τη μέθοδο της **αιμοσυγκόλλησης**. Σήμερα ο ποιοτικός προσδιορισμός τους γίνεται με τη μέθοδο του **έμμεσου ανοσοφθορισμού** (IFA) πάνω σε τομές θυροειδούς πιθήκου και ο ποσοτικός τους προσδιορισμός με την ανοσο-απορροφητική μέθοδο συνδεδεμένου ενζύμου, τη γνωστή **ELISA**.

1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού ΑΘΑ με τη μέθοδο ELISA στο Ι.Κ.Α.

Στο Ι.Κ.Α. τα ΑΘΑ προσδιορίζονται σε λίγα μόνο εργαστήρια αφού δε συμπεριλαμβάνονται στις λεγόμενες εξετάσεις «ρουτίνας». Εκτός από τις μεθόδους με την χρήση ραδιοισοτόπων, στο Ι.Κ.Α. υπάρχει επιπλέον δυνατότητα μέτρησης των ΑΘΑ με ανοσοενζυμικές μεθόδους (σειρά αναλυτών AIA και Elysis), με ραδιοανοσολογικές μεθόδους καθώς και με χημειοφωταύγεια (αναλυτές Centaur). Η σειρά αναλυτών AIA περιλαμβάνει τα μηχανήματα AIA 600, AIA II και AIA 21 τα οποία παράγονται από την εταιρεία TOSOH. Ο αναλυτής Elysis παράγεται από την εταιρεία Human και ο αναλυτής Centaur από την εταιρεία Bayer. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια του αναλυτή Elysis που παράγονται από την εταιρεία **Axis Shield** και τα αντιδραστήρια των αναλυτών AIA που παράγονται από την εταιρεία **TOSOH**. Οι ανοσοενζυμικές μέθοδοι της εταιρείας Axis Shield αναφέρονται από την ίδια ως μέθοδοι Diastat (rTPO-Diastat και Tg-Diastat). Τα αντιδραστήρια της Axis Shield «τρέχουν» τόσο στον αυτόματο αναλυτή Elysis όσο και στο ημιαυτόματο σύστημα Stat Fax.

Οι ανοσοενζυμικοί αναλυτές προσδιορίζουν τα ΑΘΑ με παραλλαγές της μεθόδου **ELISA**. Η μέθοδος λειτουργεί ως εξής: Πάνω σε στερεές επιφάνειες οι οποίες μπορεί να είναι μαγνητικές μπίλιες (αναλυτές AIA) ή πλαστικά τοιχώματα (αναλυτής Elysis) βρίσκονται συνδεδεμένα ανθρώπινα αντιγόνα Tg και ΤΡΟ. Τα αντιγόνα αυτά έρχονται σε επαφή με τα αντισώματα anti-Tg και anti-TPO του ορού του ασθενούς. Ακολουθεί πλύσιμο για την απομάκρυνση της περίσσειας των anti-Tg και anti-TPO των ασθενών. Στο επόμενο στάδιο προστίθενται στο σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος αντι-ανθρώπινα IgG αντισώματα που φέρουν κατάλληλο ιχνηθέτη. Ακολουθεί νέο πλύσιμο. Η συγκέντρωση των anti-Tg και anti-TPO στον ορό του ασθενούς αντιστοιχεί στην εκπομπή του ιχνηθέτη.

Όλα τα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στους ανοσοενζυμικούς προσδιορισμούς έχουν **ανθρώπινη προέλευση**. Εξαιρούνται τα αντιγόνα των αντιδραστηρίων της εταιρείας Axis Shield η οποία χρησιμοποιεί για τον

Καρκαλούσος Π. Σαββανή Ο., Σουβατζόγλου Α., «Σύγκριση ανοσοενζυμικών μεθόδων για την ανάλυση αντιθυροειδικών αντισωμάτων σε εργαστήρια του ΙΚΑ», *Ιατρική Επιθεώρηση ΙΚΑ*, Απρ.-Ιουν. 2005, 10,(6):19-26.

προσδιορισμό των anti-TPO **ανθρώπινο ανασυνδυασμένο αντιγόνο rTPO**. Το rTPO παράγεται από τον βακίλλο και περιέχει όλες τις αντιγονικές ιδιότητες του TPO **χωρίς όμως τα προβλήματα καθαρότητας των κλασικών αντιγόνων TPO**. Συγκεκριμένα τα κλασικά ανθρώπινα αντιγόνα TPO μολύνονται κατά τη διάρκεια της παραγωγής τους με θυροσφαιρίνη με αποτέλεσμα οι προσδιορισμοί που γίνονται με αυτά, να έχουν πολύ μεγαλύτερες τιμές αναφοράς.

2. Σκοπός της μελέτης

Κύριος σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των προσδιορισμών anti-TPO που γίνονται με το ανασυνδυασμένο αντιγόνο rTPO της Axis Shield σε σχέση με τους προσδιορισμούς που γίνονται με τα αντιγόνα TPO των αναλυτών AIA 600 και AIA 21. Παρακίνησή μας υπήρξε η διαπίστωση ότι τα αντιγόνα rTPO έχουν πολύ μικρότερες τιμές αναφοράς (0-10 IU/ml) έναντι των αντίστοιχων της σειράς AIA (0-60 U/ml). Επιπλέον μεταξύ των εργαστηρίων του Ι.Κ.Α. είχε παρατηρηθεί επανειλημμένως ότι θετικές τιμές με το αντιγόνο rTPO βγαίνουν αρνητικές με το TPO των αναλυτών AIA. Η παρατήρηση αυτή αφορά κυρίως τις θετικές τιμές anti-rTPO της τάξεως των 10 – 30 IU/ml.

Παράλληλα μελετήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των προσδιορισμών anti-Tg με τα αντιγόνα της Axis Shield και των αναλυτών της σειράς AIA. Στα αντιγόνα anti-Tg οι διαφορές στις τιμές αναφοράς είναι μικρότερες. Έτσι τα anti-Tg της Axis Shield έχουν τιμές αναφοράς 0-100 IU/ml και τα anti-Tg των αναλυτών AIA 0-120 IU/ml.

3. Υλικό και μέθοδος

Προσδιορίστηκαν τα αντισώματα anti-Tg και anti-TPO με τα αντιδραστήρια της Axis Shield σε πλήθος τυχαία επιλεγμένων δειγμάτων (N = 278). Η ανάλυσή τους έγινε σε χειροκίνητη ELISA, δηλαδή η εισαγωγή των δειγμάτων, των αντιδραστηρίων καθώς και το πλύσιμο και η τελική φωτομέτρηση έγιναν από τον ίδιο τον χειριστή χωρίς την παρεμβολή αυτόματου μηχανήματος. Ένα τμήμα των δειγμάτων αναλύθηκε στον αναλυτή AIA 21 (N=155) και τα υπόλοιπα στον αναλυτή AIA 600 (N=123). Οι αναλυτές AIA 600 και AIA 21 έχουν διαφορετική τεχνολογία αν και χρησιμοποιούν τα ίδια αντιδραστήρια. Στον αναλυτή **AIA 21 οι αναλύσεις των ΑΘΑ είναι πλήρως αυτοματοποιημένες**, ενώ στον αναλυτή **AIA 600 υπάρχει μερική μόνο αυτοματοποίηση**.

Πρέπει να τονιστεί ότι το εργαστήριο που διαθέτει τους αναλυτές της σειράς AIA δεν χρησιμοποιεί για τα ΑΘΑ τις φυσιολογικές τιμές της κατασκευάστριας εταιρείας TOSOH δηλαδή 0-100 IU/ml για τα anti-Tg και 0-60 IU/ml για το anti-TPO. Αντιθέτως κατόπιν δικής του μελέτης χρησιμοποιεί τις τιμές αναφοράς 0-60 IU/ml για το anti-Tg και για το anti-TPO τις 0-30 IU/ml.

4. Αποτελέσματα

Για τη μελέτη της συσχέτισης μεταξύ των διαφόρων μεθόδων σχεδιάστηκαν διαγράμματα διασποράς και υπολογίστηκαν τα στατιστικά r Pearson και r Concordance.

Τα διαγράμματα διασποράς (εικόνες 1, 2, 3, 4) φανερώνουν ότι δεν υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ των αντιγόνων Tg και TPO των AIA και της Axis Shield. Σε παρόμοια συμπεράσματα οδηγούν και οι τιμές των στατιστικών r Pearson και r Concordance (Πίνακες 1 και 2). Υπενθυμίζεται στους αναγνώστες των πινάκων 1 και 2 ότι και στα δύο στατιστικά η τιμή ένα (1) δηλώνει πλήρη συσχέτιση. Από τα δύο στατιστικά r Pearson και r Concordance το τελευταίο θεωρείται καλύτερος δείκτης. Μεταξύ AIA 21 και Axis Shield για το αντιγόνο Tg υπολογίστηκαν r Pearson=0,87 και r Concordance=0,84 και για το αντιγόνο TPO υπολογίστηκαν r Pearson=0,83

Καρκαλούσος Π., Σαββανή Ο., Σουβατζόγλου Α., «Σύγκριση ανοσοενζυμικών μεθόδων για την ανάλυση αντιθυροειδικών αντισωμάτων σε εργαστήρια του ΙΚΑ», *Ιατρική Επιθεώρηση ΙΚΑ*, Απρ.-Ιουν. 2005, 10,(6):19-26.

και r Concordance=0,69. Αντίστοιχα μεταξύ AIA 600 και Axis Shield για το αντιγόνο Tg υπολογίστηκαν r Pearson=0,59 και r Concordance=0,59 και για το αντιγόνο TPO r Pearson=0,63 και r Concordance=0,6. Είναι φανερό ότι οι συσχετίσεις μεταξύ των δύο αναλυτών AIA και της μεθόδου Axis Shield δεν είναι ικανοποιητικές, αφού είναι της τάξεως του 0,7 που σημαίνει ότι μόλις το 70% το τιμών συσχετίζονται.

Επιπλέον ερώτημα που χρήζει απάντησης είναι σε ποιες τιμές (χαμηλές ή υψηλές) οφείλεται αυτή η μικρή συσχέτιση. Η απάντηση σε αυτό το ερώτημα ερμηνεύει την παρατήρηση των εργαστηρίων του Ι.Κ.Α. ότι υπάρχει ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων τους, αφού θετικές τιμές με τη μια μέθοδο βγαίνουν αρνητικές με την άλλη.

Υπολογίστηκαν λοιπόν εκ νέου τα στατιστικά r Person και r Concordance αφού χωρίστηκαν προηγουμένως οι τιμές των anti-TPO και anti-TG σε χαμηλές και υψηλές. Η σύγκριση περιορίστηκε μεταξύ ζευγαριών τιμών όπου υπήρχε υποψία για ασυμφωνία. Έτσι οι συγκρίσεις αφορούσαν μόνο τιμές anti-rTPO και anti-Tg της Axis Shield της τάξεως των 0–30 IU/ml. Αποδείχθηκε τελικά ότι **οι χαμηλές τιμές anti-Tg και anti-TPO των αναλυτών AIA έχουν πολύ μικρότερη συσχέτιση με τις αντίστοιχες τιμές των Axis Shield από ότι οι υψηλές τιμές** (Πίνακες 1 και 2).

Στα διαγράμματα διασποράς των εικόνων 5, 6, 7, 8 φαίνεται καθαρά η ασυμφωνία που υπάρχει μεταξύ των αποτελεσμάτων διαφορετικών μεθοδολογιών που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των ΑΘΑ στο Ι.Κ.Α.. Τα τέσσερα αυτά διαγράμματα δείχνουν ότι σε αρκετές περιπτώσεις ασθενών με θετικές τιμές anti-rTPO προκύπτουν φυσιολογικά αποτελέσματα όταν η ανάλυση των ορών τους γίνει σε AIA 600 (ποσοστό 16%) και AIA 21 (ποσοστό 9%). Στους προσδιορισμούς των anti-Tg συμβαίνει το ακριβώς αντίθετο. Οροί με θετικές τιμές anti-Tg στον αναλυτή AIA 600 και στον αναλυτή AIA 21 δίνουν φυσιολογικά αποτελέσματα όταν αναλυθούν με τα αντιγόνα Tg της Axis Shield. Τα αντίστοιχα ποσοστά είναι 18,7% και 16%.

Είναι γνωστό ότι στην αυτοάνοση θυροειδίτιδα οι θετικές τιμές anti-TPO συνδυάζονται συνήθως με θετικές τιμές anti-Tg. Στις μεθόδους της Axis Shield το ποσοστό αυτό ήταν 21%, στον αναλυτή AIA 600 46% και στον AIA 21 περίπου 47%.

	Αναλυτές	r Pearson	r Concordance	N
Χαμηλές τιμές	AIA 21	0,29	0,085	68
	AIA 600	0,1	0,052	20
Υψηλές τιμές	AIA 21	0,85	0,809	66
	AIA 600	0,52	0,528	37
Συνολικές τιμές	AIA 21	0,87	0,836	137
	AIA 600	0,59	0,588	57

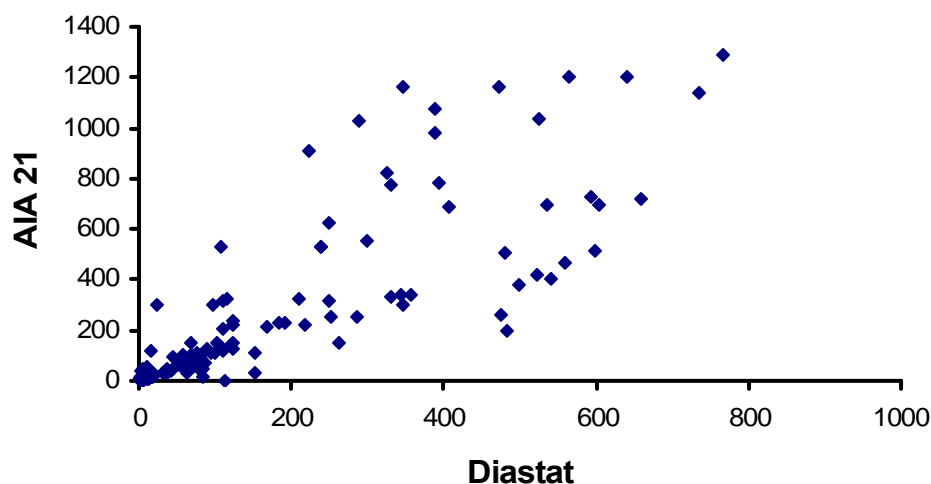
Πίνακας 1

Συσχετίσεις των χαμηλών τιμών anti-Tg (0 – 30 IU/ml) της Axis Shield με χαμηλές και υψηλές τιμές anti-Tg που αναλύθηκαν στους αναλυτές AIA 21 και AIA 600. Υψηλή θετική συσχέτιση υπάρχει μόνο μεταξύ χαμηλών τιμών anti-Tg της Axis Shield και υψηλών τιμών anti-Tg στους αναλυτές AIA.

	Αναλυτές	r Pearson	r Concordance	N
Χαμηλές τιμές	AIA 21	0,45	0,115	31
Υψηλές τιμές	AIA 21	0,8	0,637	106
Συνολικές τιμές	AIA 21	0,83	0,691	137
	AIA 600	0,63	0,604	57

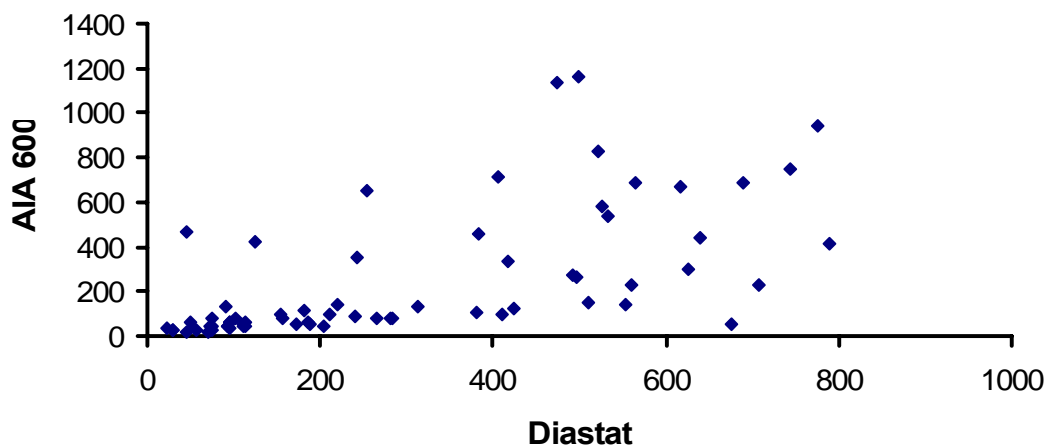
Πίνακας 2

Συσχετίσεις των χαμηλών τιμών anti-rTPO (0 – 30 IU/ml) της Axis Shield με χαμηλές και υψηλές τιμές anti-TPO που αναλύθηκαν στον αναλυτή AIA 21. Υψηλή θετική συσχέτιση υπάρχει μόνο μεταξύ των χαμηλών τιμών anti-rTPO της Axis Shield και των υψηλών τιμών anti-TPO στον αναλυτή AIA 21.



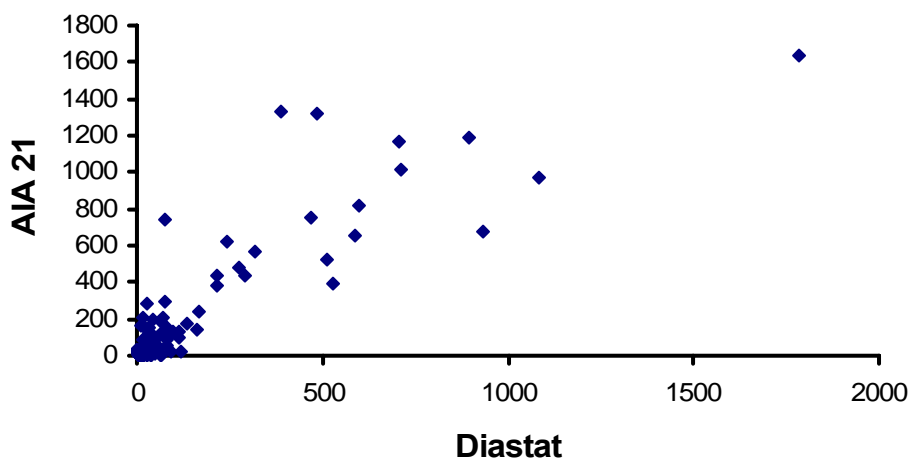
Εικόνα 1

Διάγραμμα διασποράς για την σύγκριση των μεθόδων προσδιορισμού anti-TPO χρησιμοποιώντας το αντιγόνο TPO του αναλυτή AIA 21 και το αντιγόνο rTPO (μέθοδος Diastat). Δεν υπάρχει καλή συσχέτιση.



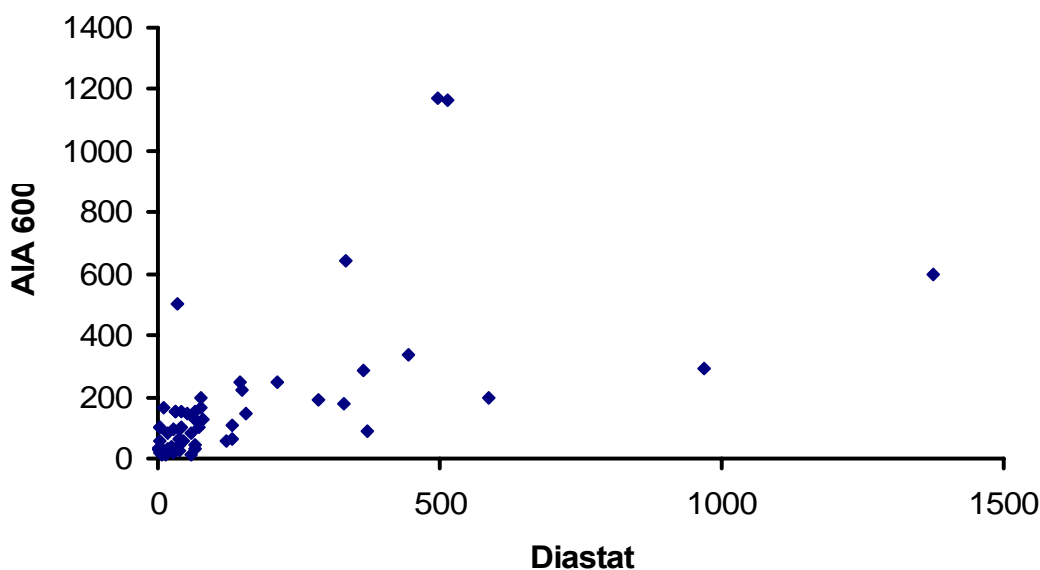
Εικόνα 2

Διάγραμμα διασποράς για την σύγκριση των μεθόδων προσδιορισμών anti-TPO χρησιμοποιώντας το αντιγόνο TPO του αναλυτή AIA 600 και το ανασυνδυασμένο αντιγόνο rTPO της Axis Shield (μέθοδος Diastat). Είναι φανερή η έλλειψη συσχέτισης.



Εικόνα 3

Διάγραμμα διασποράς για την σύγκριση των μεθόδων προσδιορισμού anti-Tg χρησιμοποιώντας το αντιγόνο Tg του αναλυτή AIA 21 και το αντιγόνο Tg της Axis Shield (μέθοδος Diastat). Δεν υπάρχει καλή συσχέτιση.



Εικόνα 4

Διάγραμμα διασποράς για την σύγκριση των μεθόδων προσδιορισμού anti-Tg χρησιμοποιώντας το αντιγόνο Tg του αναλυτή AIA 600 και το αντιγόνο Tg της Axis Shield (μέθοδος Diastat).

5. Συμπέρασμα

Η βασική παρατήρηση που προκύπτει από την έκθεση των αποτελεσμάτων είναι ότι **πολύ συχνά οροί με θετικές τιμές anti-rTPO όταν αναλύονται στους αναλυτές AIA δίνουν φυσιολογικά αποτελέσματα**. Τίθεται λοιπόν το ερώτημα, αν τα θετικά αποτελέσματα anti-rTPO είναι πράγματι σωστά. Για να δοθεί απάντηση αναλύθηκαν 28 δείγματα με διαγνωσμένη θυρεοειδίτιδα τόσο με τις μεθόδους της Axis Shield όσο και με ανοσοραδιολογική μέθοδο (RIA). Οι φυσιολογικές τιμές της μεθόδου RIA είναι για το anti-Tg 0–115 IU/ml και για το anti-TPO 0–34 IU/ml. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 3 όπου φαίνεται ότι το **rTPO της Axis Shield έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από τη μέθοδο RIA** αφού έχει περισσότερα θετικά αποτελέσματα σε θετικά διαγνωσμένα δείγματα.

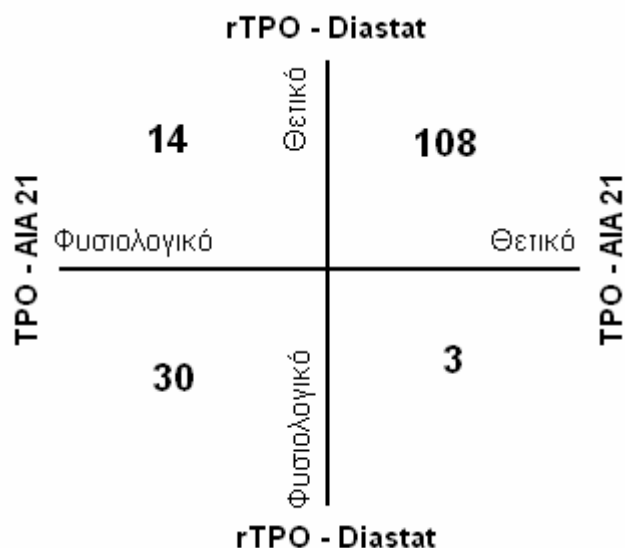
Καταλήγουμε λοιπόν στο συμπέρασμα ότι **το αντιδραστήριο rTPO της Axis Shield είναι περισσότερο ευαίσθητο στη διάγνωση της αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας από τα αντιδραστήρια TPO της TOSOH** που χρησιμοποιούν οι αναλυτές AIA 21 και AIA 600. Το αντίθετο φαίνεται να συμβαίνει με τα αντιδραστήρια Tg της Axis Shield. Έτσι στον αναλυτή AIA 21 βρέθηκαν 52 θετικά δείγματα anti-Tg με θετικό anti-TPO στο ίδιο αναλυτή, εκ των οποίων τα 23 είχαν αρνητικό anti-Tg και θετικό anti-rTPO με τα αντιδραστήρια της Axis Shield (Εικόνες 5, 6). Παρόμοια, στον αναλυτή AIA 600 βρέθηκαν 39 θετικά δείγματα anti-Tg με θετικό anti-TPO στο ίδιο αναλυτή. Τα 20 από αυτά τα 39 δείγματα είχαν αρνητικό anti-Tg και θετικό anti-rTPO με τα αντιδραστήρια της Axis Shield (Εικόνες 7, 8). Το συμπέρασμα λοιπόν είναι ότι **τα αντιδραστήρια Tg της TOSOH, συγκρινόμενα με τα αντίστοιχα αντιδραστήρια Tg της Axis Shield, είναι περισσότερο ευαίσθητα στη διάγνωση της αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας**.

Η καλύτερη συσχέτιση των ΑΘΑ μεταξύ του αναλυτή AIA 21 και των μεθόδων της Axis Shield σε σχέση με την συσχέτιση μεταξύ του αναλυτή AIA 600 και των μεθόδων της Axis Shield, οφείλεται πιθανότατα στη διαφορετική τεχνολογία που χρησιμοποιούν οι δύο αναλυτές AIA. Ο αναλυτής AIA 21 είναι πλήρως αυτοματοποιημένος, ενώ ο αναλυτής AIA 600 μόνο μερικώς με αποτέλεσμα ο τελευταίος να έχει και μεγαλύτερη μεταβλητότητα.

	Diastat		RIA		ΔΙΑΓΝΩΣΗ
	TG	TPO	TG	TPO	
1	57,3	102	159	412	ΟΜΟΙΟΓΕΝΗΣ ΔΙΟΓΚΩΣΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ
2	12,6	5,6	<20	7,4	ΟΜΟΙΟΓΕΝΗΣ ΔΙΟΓΚΩΣΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ
3	23,6	475	22	321,2	ΟΜΟΙΟΓΕΝΗΣ ΔΙΟΓΚΩΣΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ
4	278,6	592,8	444,7	>600	ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ HASHIMOTO
5	37,9	240,9	14,7	123,8	ΟΖΩΔΗΣ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ
6	75,5	69,2	680	44,8	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
7	7,6	497,5	<20	507,7	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
8	42,4	110	336	79	ΟΖΩΔΗΣ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ
9	211,1	19,4	33	16,5	ΟΖΩΔΗΣ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ
10	332,3	312,2	-	240,5	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
11	497,5	220,3	233	132,7	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
12	41,2	405,2	132	535	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
13	514,2	211,3	48	83	ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ HASHIMOTO
14	35,7	92,3	113	86	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
15	74,6	416,6	103	362,4	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
16	45,3	>600	90	>600	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
17	68,5	293,9	18	187,7	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
18	23,1	335,1	<20	144,3	ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ
19	46	530,4	564,9	54,9	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
20	18,6	1,4	<20	16,4	ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ
21	21,45	11,4	120,4	14,3	ΟΖΩΔΗΣ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ
22	1318,5	528,7	120,4	14,3	ΥΠΟΤΡΟΠΗ ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ
23	52,4	49,4	351,2	65,6	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
24	30,8	4,75	< 20	7,5	ΑΠΛΗ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ
25	29,85	7,4	<20	11,6	ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ
26	30,95	570	303	>600	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ
27	2,55	3,1	< 20	14,7	ΑΠΛΗ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ
28	17,15	474,9	23,3	293,6	ΧΡΟΝΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ

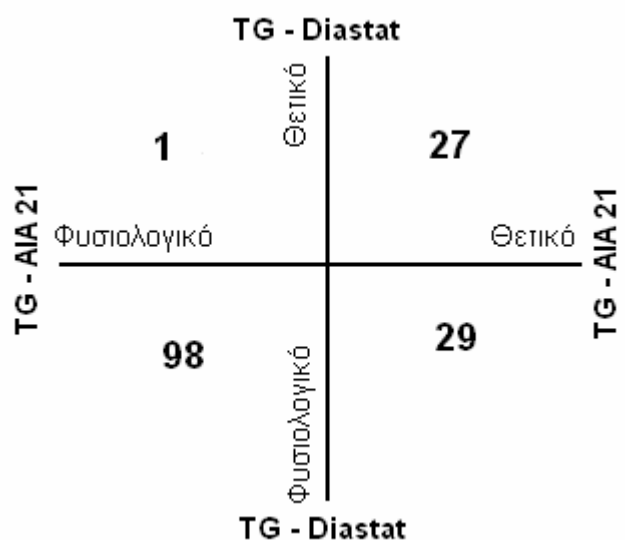
Πίνακας 3

Κατάλογος δειγμάτων όπου έχει γίνει προσδιορισμός των ΑΘΑ με τα αντιδραστήρια της Axis Shield, αλλά και με τη μέθοδο RIA. Όλα τα δείγματα έχουν διαγνωσμένη θυροειδίτιδα. Παρατηρείται ότι η μέθοδος rTPO της Axis Shield δίνει τα περισσότερα θετικά αποτελέσματα αφού σε τρεις περιπτώσεις (δείγματα 9, 21, 22) το rTPO δίνει θετικά αποτελέσματα σε αντίθεση με τον προσδιορισμό anti-TPO με τη μέθοδο RIA.



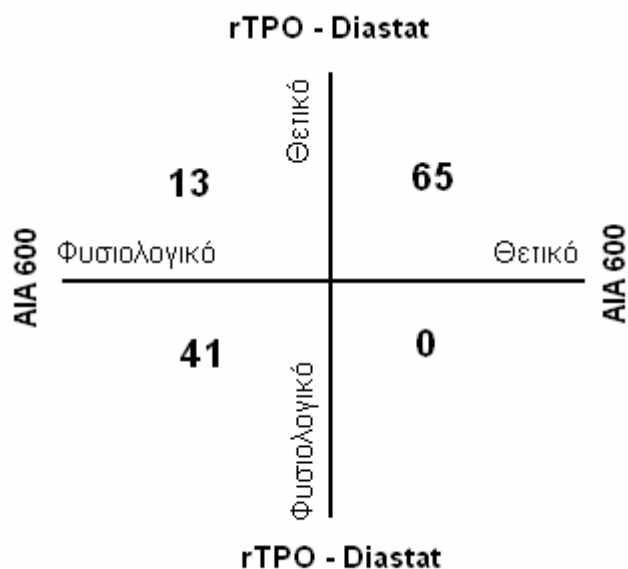
Εικόνα 5

Το διάγραμμα απεικονίζει την ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων rTPO της Axis Shield (μέθοδος Diastat) και του TPO του AIA 21. Το 9% των θετικών αποτελεσμάτων του rTPO αντιστοιχούν σε φυσιολογική τιμή TPO στον AIA 21. Επιπλέον το 2% των θετικών TPO στον αναλυτή AIA 21 αντιστοιχεί σε φυσιολογικά rTPO.



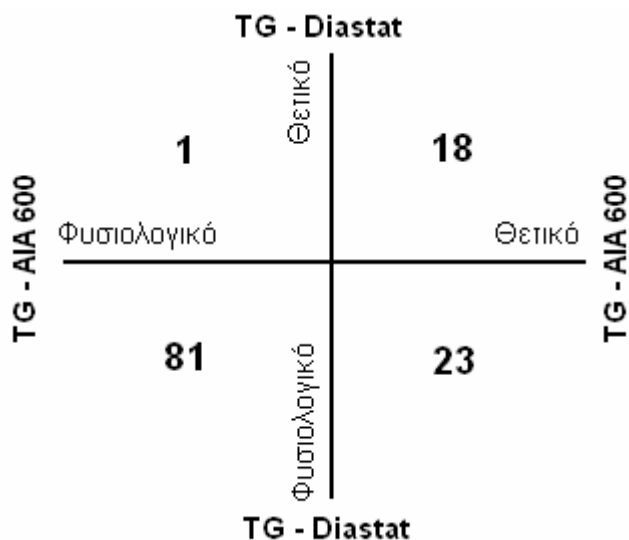
Εικόνα 6

Το διάγραμμα απεικονίζει την ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων anti-Tg της Axis Shield (μέθοδος Diastat) και των anti-Tg του AIA 21. Το 18,7% των θετικών αποτελεσμάτων anti-Tg στον AIA 21 αντιστοιχούν σε φυσιολογικές τιμές anti-Tg με τα αντιδραστήρια της Axis Shield.



Εικόνα 7

Το διάγραμμα απεικονίζει την ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων rTPO της Axis Shield (μέθοδος Diastat) και του TPO του AIA 600. Το 16% των θετικών αποτελεσμάτων του rTPO αντιστοιχούν σε φυσιολογικές τιμές TPO στον AIA 600.



Εικόνα 8

Το διάγραμμα απεικονίζει την ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων Tg της Axis Shield (μέθοδος Diastat) και του Tg του AIA 600. Το 18,7% των θετικών αποτελεσμάτων anti-Tg στον AIA 600 αντιστοιχούν σε φυσιολογικές τιμές anti-Tg με τα αντιδραστήρια της Axis Shield.

Περίληψη

Ο προσδιορισμός των Αντιθυροειδικών Αντισωμάτων (ΑΘΑ) αποτελεί ένα από τα απαραίτητα μέσα για τη διάγνωση της αυτοάνοσης θυροειδίτιδας. Στο Ι.Κ.Α. ο προσδιορισμός τους με ανοσοενζυμικές μεθόδους γίνεται με την χρήση των συσκευών και των αντιδραστηρίων δύο εταιρειών: της εταιρείας TOSOH η οποία χρησιμοποιεί για τα αντιδραστήριά της τους αναλυτές AIA 21, AIA II και AIA 600 και της εταιρείας Axis Shield η οποία χρησιμοποιεί τα αντιδραστήριά της στον αναλυτή Elysis και στο ημιαυτόματο σύστημα Stat Fax. Όλες οι εταιρείες χρησιμοποιούν στα αντιδραστήρια τους ανθρώπινα αντιγόνα Tg και TPO με εξαίρεση την εταιρεία Axis Shield, η οποία χρησιμοποιεί για τον προσδιορισμό των anti-TPO ανθρώπινα ανασυνδυασμένα αντιγόνα (rTPO).

Μελετήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των διαφόρων μεθόδων και έγινε προσπάθεια να προσδιοριστεί η ευαισθησία τους. Αποδείχθηκε ότι η συσχέτιση των μεθοδολογιών των AIA με τους αντίστοιχους της Axis Shield είναι μόλις 60% με τη μεγαλύτερη αντιστοιχία να υπάρχει στις χαμηλές τιμές. Διαπιστώθηκε επίσης ότι το αντιδραστήριο rTPO της Axis Shield είναι περισσότερο ευαίσθητο από τα αντίστοιχα αντιδραστήρια των αναλυτών AIA. Από την άλλη μεριά ο προσδιορισμός των anti-Tg δίνει περισσότερα θετικά αποτελέσματα στους αναλυτές AIA.

Λέξεις κλειδιά: Αντιθυροειδικά αντισώματα, Ανοσοενζυμικοί αναλυτές, Αυτοάνοση θυροειδίτιδα

COMPARISON OF IMMUNOENZYMOMETRIC ASSAYS OF ANTITHYROID ANTIBODIES IN THE LABORATORIES OF SSI

Summary

Autoantibody levels of anti-Tg and anti-TPO represent one parameter in a multicriterion diagnostic process for the diagnosis of autoimmune thyroiditis. In the Social Security Institute (SSI) the determination of antithyroid antibodies with immunoenzymometric methods is held with the devices and the reagents of two corporations. The first is the TOSOH Corp. which manufactures the analyzers AIA 21, AIA II and AIA 600 and their reagents and the second the Axis Shield Corp. which runs their reagents on the analyzer Elysis and the semiautomatic system Stat Fax. All corporations use as reagents specific human antigens Tg and TPO with the exception of Axis Shield Corp. which uses human recombinant antigens (rTPO) for the determination of anti-TPO.

We studied the correlation between the various methods and we tried to estimate their sensitivity. It was proved that the correlation between the AIA and Axis Shield's methodologies is only 60%. The reagent rTPO of Axis Shield seems more sensitive than the reagents TPO of AIA analyzers. On the contrary, the determination of anti-Tg has more positive results on AIA analyzers.

Λέξεις κλειδιά: anti-TPO, anti-Tg, Immunoenzymometric analyzers, Autoimmune thyroiditis

Καρκαλούσος Π., Σαββανή Ο., Σουβατζόγλου Α., «Σύγκριση ανοσοενζυμικών μεθόδων για την ανάλυση αντιθυροειδικών αντισωμάτων σε εργαστήρια του ΙΚΑ», *Ιατρική Επιθεώρηση ΙΚΑ*, Απρ.-Ιουν. 2005, 10,(6):19-26.

Βιβλιογραφία

1. Αρσένη Α, Δεληγιάννη Β., Ζουλλιέν Ζ., *Ιατρική Βιοχημεία*, 2^η Έκδοση 1991, σελ. 398 – 405.
2. Zilva J., Pannall P., *Clinical Chemistry in diagnosis and treatment*, Έκδοση Παρισιάνος 1988, σελ. 194 – 207.
3. Eastham R., *Biochemical Values in Clinical Medicine*, Έκδοση Παρισιάνος 1995, σελ. 55 – 56.
4. Τσιπούρα Α., Νάνου Γ., Δασκάλου Τ., Παγκάλου Μ., Καραμπατάκης Ν., Καραμπατάκης Θ., Προσδιορισμός αντιθυροειδικών αντισωμάτων anti-Tg και anti-TPO σε ασθενείς με θυροειδίτιδα Hashimoto, 1^ο Πανελλήνιο συνέδριο ιατρικής βιοχημείας, Αθήνα 2005.
5. Αθανασίου Π., Κώστογλου Ι., Γαλανάκη Χ., Βοσβοτέκας Γ., Βριτζάλη Ε., Καλδρυμίδης Φ., Δήμου Π., Αντιθυροειδικά αντισώματα και αυτοάνοση θυροειδική νόσος σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο, 1^ο Πανελλήνιο συνέδριο ιατρικής βιοχημείας, Αθήνα 2005.