

ДИЈАГНОЗА АУТОИМУНСКЕ ТИРЕОИДНЕ БОЛЕСТИ

Божо ТРБОЈЕВИЋ¹, Снежана ЂУРИЦА²

¹Институт за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма, Клинички центар Србије, Београд;

²Центар за болести штитасте жлезде и хормонски узроковану остеопорозу, Интерна клиника, Клиничко-болнички центар „Звездара”, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Аутоимунска тиреоидна болест (АИТБ) хуморалним и ћелијским имунским механизмима оштећује тиреоидне ћелије и мења функцију штитасте жлезде. Оштећење фоликулских ћелија настаје када се сензибилизација Т лимфоцитима, односно аутоантитела вежу за тиреоидну ћелију, због чега настају лиза ћелије и запаљењска реакција. Промене функције тиреоидне ћелије настају због деловања стимулишућих или блокирајућих аутоантитела на рецепторе ћелијске мембране. Сматра се да су три основна аутоантигена укључена у настајање АИТБ: тиреоидна пероксидаза (ТРО), тиреоглобулин (Тg) и ТSH рецептор. Описани су и други аутоантигени, као што је заједнички преносилац за натријум и јод (NIS), али њихова улога у дијагностиковању тиреоидних аутоимунских поремећаја још није утврђена. Значај све веће учесталости открића антитела према тиреоидним хормонима такође до данас није јасан. Антитела према ТSH рецептору (ТSHR) су хетерогена и могу да имитирају дејство ТSH када изазивају хипертиреозидизам или, алтернативно, антагонизују дејства ТSH и изазивају хипотиреоидизам. Аутоантитела према ТРО учествују у деструктивним процесима који се коначно завршавају инсуфицијенцијом тиреоидне функције код Хашимотовог (Hashimoto) тиреоидитиса (HT). Патолошка улога антитела према тиреоглобулину (ТgAb) и даље остаје нејасна. Лабораторијски тестови којима се процењују аутоимунски процеси у тиреоидној жлезди данас нису на располагању у највећем броју лабораторија. Насупрот томе, тестови за процену хуморалног имунског одговора (одређивање специфичних аутоантитела) приступачни су у већини клиничких лабораторија. Дијагностичка и прогнозна вредност мерења тиреоидних аутоантитела у великој мери зависи од лабораторијских, преаналитичких и аналитичких фактора које обавезно морамо имати у виду код тумачења резултата. Иако је одређивање тиреоидних аутоантитела значајно у многим клиничким стањима, њихова употреба треба да буде веома селективна.

Кључне речи: аутоимунска тиреоидна болест; хипертиреозидизам; хипотиреоидизам

УВОД

Почев од *anno mirrabile* 1956, када су три круцијална открића у ендокринологији [1-3] померила границе више научних дисциплина, на првом месту имунологије и ендокринологије, аутоимунска тиреоидна болест (АИТБ) не престаје да привлачи пажњу научника у области базичних истраживања, клиничара и најширих слојева лекара који се у својој пракси срећу с овим проблемом. Данашњи ставови у вези са дефиницијом, епидемиологијом, патологијом и патолошком физиологијом аутоимунског процеса у штитастој жлезди исцрпно су обрађени на другим местима у овом броју. Због тога се на овом месту пажња у највећој мери посвећује могућностима лабораторијске дијагностике АИТБ, као и значају аутоимунских показатеља у благовременом откривању могуће појаве и других аутоимунских поремећаја.

АИТБ и друге ендокрине (и неендокрине) аутоимунске болести се најчешће веома споро развијају. По правилу, непознат је период од иницијалног покретача до потпуног клиничког испољавања болести, тако да се поставља питање значаја аутоимунских показатеља у предвиђању појаве, тока и исхода аутоимунске ендокринопатије. Осим тога, када се открију антитела према тиреоидним структурама, каква је вероватноћа да ће се испољити АИТБ? Или: ако нисмо у стању да откријемо неки од данас прихваћених „класичних показатеља” аутоимунских процеса у штитастој жлезди, да ли клиничка слика

и ток, који несумњиво указују на аутоимунску генезу поремећаја, представљају довољне доказе да је у питању АИТБ? Да ли код сваког болесника са АИТБ треба наставити даља трагања ради раног препознавања могућег (али не обавезног) придруженог аутоимунског поремећаја? Да ли трагање ограничити само на аутоимунске ендокринопатије или га проширити на цео спектар аутоимунских болести које се јављају удружене са АИТБ? Треба ли рутински проверавати све чланове породице болесника са АИТБ? Посебно осетљива група трудница је нарочито занимљива с аспекта раног дијагностиковања (и лечења) АИТБ. Познато је да се аутоимунске болести у трудноћи спонтано ублажавају, али да после порођаја долази до њихове изразите егзацербације. Аутоантитела пролазе плаценту и (нека од њих) могу да доведу до поремећаја функције, односно грађе тиреоидне жлезде код фетуса. Да ли свакој трудници треба одредити антитела према тиреоидној пероксидази (ТРО) на почетку трудноће и даље надгледати сваку трудницу код које је утврђен повишен титар? Колико су оправдане тврдње да присуство неких аутоантитела може да утиче на ток и исход трудноће? На сва ова и многа друга питања није могуће одговорити на једном месту и једнозначно, због чега ће се пажња усмерити на најчешће показатеље тиреоидне болести и других аутоимунских болести који су до данас показали највећу вредност у дијагностиковању и праћењу клиничког тока аутоимунског процеса у штитастој жлезди.

АНТИТЕЛА ПРЕМА ТИРЕОИДНОЈ ПЕРОКСИДАЗИ

Тиреоидна пероксидаза (ТРО) је хемогликопротеид од око 110 kD везан за мембрану тиреоидне фоликулске ћелије. По својој функцији је ензим који катализује јодинацију тиреозилских остатака и њихово спајање, да би у коначном исходу настали тиреоидни хормони, тријодотиронин и тетрајодотиронин, тироксин. Описано је неколико облика ТРО, у зависности од посттранслацијског цепања ТРО РНК [4]. Молекуле ТРО могу да се разликују и у тродимензионалној структури, степену гликозилације и везивања хема. Највећи део ТРО молекула не доспева до апексне мембране и интрацелуларно се разлаже. Појава ТРО антитела (ТРО At) обично претходи развоју тиреоидне дисфункције. У неким студијама наведено је да ТРО антитела могу бити цитотоксична према фоликулској тиреоидној ћелији [5, 6]. Титар ТРО антитела је у корелацији са степеном лимфоцитне инфилтрације код еутиреоидних носилаца и ова антитела се могу наћи у знатном проценту код еутиреоидних особа (преваленција је 12-26%). Чак и када је тиреотропин (TSH) у распону нормалних вредности, титар ТРО антитела је у корелацији са нивоом TSH у серуму, због чега се мисли да и у еутиреоидном стању ова антитела најављују појаву АИТБ. Тестови за одређивање анти-ТРО антитела су данас врло сензитивни, што омогућава откривање и малих титара ових антитела код скоро свих испитаника. Ипак, вредности изнад границе коју одређује произвођач теста и интерни стандард лабораторије указују на вероватан развој тиреоидитиса и последичне тиреоидне инсуфицијенције.

Антитела према ТРО су кључни показатељ АИТБ и могу се наћи код скоро свих болесника са Хашимотовим (Hashimoto) тиреоидитисом (HT) [7], код две трећине болесника са постпорођајним тиреоидитисом [8, 9] и 75% особа оболелих од Грејвсовог (Graves) хипертиреозидизма [10]. Антитела се у највећој мери производе у лимфоцитним инфилтратима у тиреоидној жлезди [11, 12], а само у малој мери у околним лимфним чворовима или у костној сржи [13]. Висина титра анти-ТРО антитела испољава степен лимфоцитне инфилтрације без обзира на то да ли постоји и функцијски поремећај (хипотиреоидизам).

Мерење анти-ТРО антитела у серуму

Тестови хемаглутинације и имунофлуоресцентне технике данас су замењене комерцијалним имуносорбентним тестовима везаним за ензим (ELISA) и имунорадиометријским поступцима [14]. У већини комерцијално употребљаваних огледа граница осетљивости детекције је око 20 IU/ml, али има и тестова са границом детекције мањом од 0,5 IU/ml [15]. Веома осетљиви поступци обично не откривају анти-ТРО антитела у одабраним групама здравих особа: млади мушкарци (до 30 година) са нивоом TSH у серуму од 0,5 до 2,0 mIU/l без струме и без породичне анамнезе тиреоидне болести [15]. Изузетно осетљиви тестови ипак и у групи тако „потпуно здравих

особа” откривају присуство мерљивих концентрација анти-ТРО антитела. У студији која је обухватила 1.295 еутиреоидних особа без ултразвучног налаза типичног за АИТБ, код 98,6% испитаника је забележен детектабилни ниво анти-ТРО антитела [16]. Даљом анализом ови аутори су уочили нормалну дистрибуцију (према Гаусовој криви) детектабилног титра анти-ТРО антитела, независно од пола и старости, али испод доње границе за нормалне вредности употребљене методе. На основу ових и других резултата [17, 18] закључује се да се, практично, код свих (или бар свих) одраслих особа бележи неки титар анти-ТРО антитела, те да је ТРО природни антиген за појаву аутоантитела.

Супклинички хипотиреоидизам и ТРО антитела

Супклинички хипотиреоидизам (повећање концентрације TSH у крви уз нормалне концентрације тиреоидних хормона и без клиничких појава болести) је често стање, али још нема договора да ли га треба лечити. Два новија рада независно долазе до закључака да још нема довољно доказа да надокнада тиреоидних хормона има повећан ефекат у овом стању [19, 20]. Због тога трагање за супклиничком тиреоидном болешћу у популацији сада не би било довољно оправдано, иако се препоручује пажљив приступ издвојеној групи трудница или особама с високим ризиком за АИТБ (породична анамнеза АИТБ, друге аутоимунске болести, жене старије од 60 година). Мерење анти-ТРО антитела би у том случају био први корак; одређивање TSH би следило само код особа с позитивним анти-ТРО антителима у одређеним ризичним групама (Табела 1).

Трудноћа

Процењује се да се хипотиреоидизам испољава код скоро 2% трудница. Данас је са сигурношћу утврђено да је код хипотиреоидне труднице потребно повећати дневну дозу тироксина у просеку за 25-50% [21, 22]. Постпартусна тиреоидна дисфункција (PPTD) је аутоимунска тиреоидна болест изазвана деструктивним деловањем лимфоцита који инфилтришу тиреоидну жлезду [23]. Појављује се у првим месецима после порођаја и обично почиње тиреотоксичном фазом, која се најчешће дијагностикује ретроградно пошто су симптоми благи и неспецифични (често се замењују уобичајеним тегобама постпорођајног доба и обавезама које изазива појава новорођенчета) [24, 25]. После ове фазе обично следи хипотиреоидна фаза, која траје више месеци, а процењује се да до 30% PPTD прелази у трајни хипотиреоидизам. Постпорођајни тиреоидитис се јавља код око 5% свих трудноћа (иако се описују и учесталости од 17%!) [26]. Типично се описује налаз анти-ТРО антитела која фиксирају комплемент, али су описани и случајеви PPTD без позитивних анти-ТРО антитела [27, 28]. Код жена са позитивним титром на анти-ТРО антитела у трећем триместру трудноће постоји

ТАБЕЛА 1. Примена одређивања антитела тиреоидне пероксидазе у специфичним групама.
TABLE 1. TPO Ab determination in specific groups of patients.

Група Group	Могући ризик Possible risk
Жене које желе трудноћу Potentially pregnant women	Хипотиреоидизам у првом триместру; PPTD Hypothyroidism in 1 st trimester of pregnancy; PPTD
Труднице са факторима ризика Pregnant women with risk factors	Хипотиреоидизам Hypothyroidism
Особе на терапији амиодароном, литијумом, интерфероном алфа Therapy with amiodarone, lithium, interferon alpha	Хипотиреоидизам као нежељена последица Hypothyroidism as side effect
Рођаци особа са АИТБ Familiar history of AITD	Могућа појава хипотиреоидизма Possible hypothyroidism
Особе са другим аутоимунским болестима (ДМ тип 1, Адисонова болест, витилиго, ...) Other autoimmune diseases (DM type 1, Addisons'disease, vitiligo,...)	Могућа појава хипотиреоидизма Possible hypothyroidism

ризик од 50% да се развије PPTD. Овај ризик је већи од 80% ако су антитела позитивна у првом триместру, а само 2% код жена са негативним титром на анти-ТРО антитела [29]. Због тога се препоручује да се код сваке (потенцијалне) труднице одреди присуство анти-ТРО антитела. Овај став је, међутим, подложен критици јер је специфичност тестирања од 45 до 89%, а позитивна вредност предвиђања 31-78%. За сада нема доказа да увођење тироксина хипотиреоидним PPTD особама смањује вероватноћу развоја трајног хипотиреоидизма.

Особе са другим аутоимунским болестима

АИТБ је много чешћа код болесника са постојећим аутоимунским обољењем специфичним за орган, најчешће дијабетесом тип 1 или Адисоновом болешћу. Одређивање анти-ТРО антитела код ових особа помаже да се открију потенцијални болесници код којих ће се развити тиреоидна инсуфицијенција још пре него што се утврди пораст концентрације TSH, што је први знак хипотиреоидизма.

Лечење амиодароном

Тиреоидна дисфункција се јавља код 15% болесника лечених амиодароном. Ни тиреотоксикоза индукована амиодароном, ни хипотиреоидизам нису изазвани аутоимунским механизмима, али анти-ТРО антитела код ових особа повећавају вероватноћу да ће се развити хипотиреоидизам у току лечења амиодароном. Због тога се препоручује да се пре примене амиодарона одреди присуство анти-ТРО антитела. Ако су ова антитела позитивна, онда је корисно редовно праћење нивоа TSH, како би се благовремено открио хипотиреоидизам. Много тежа компликација примене амиодарона је тиреотоксикоза, која је непредвидљива и може се појавити после дуготрајне примене лека код особа које немају налаз позитивних анти-ТРО антитела [30].

Алфа интерферон

Данас се алфа интерферон користи као главни терапијски агенс у лечењу хепатитиса C, али је једна од

његових нежељених последица и индукција АИТБ [31]. Аутоимунски хипотиреоидизам је најчешћа компликација, али се описују и Грејвсова болест (ГБ) и деструктивни тиреоидитис. На основу метаанализа података из литературе, оцењује се да се код око 21% болесника с позитивним налазом анти-ТРО антитела развија АИТБ код лечења интерфероном алфа, у односу на 5% особа код којих се не показује позитиван налаз анти-ТРО антитела а код којих се развија АИТБ током лечења интерфероном [32].

Примена литијума

Литијум се користи у лечењу биполарних поремећаја и у хематологији. Примењено је да се код болесника који примају литијум, а нарочито код жена, чешће развија аутоимунски тиреоидитис [33]. Литијум инхибише активност аденилне циклазе, али има и специфични утицај на тиреоидне фоликулске ћелије, у којима инхибише преузимање и јода и спајање јодотиреоина. Овим механизмима може да доведе до појаве струме и хипотиреоидизма. Преваленција хипотиреоидизма изазваног литијумом је 3-4%, али су супклинички облици чешћи [34]. Присуство анти-ТРО антитела пре почетка лечења литијумом је значајан фактор вероватноће да ће се појавити хипотиреоидизам. Због тога се препоручује мерење анти-ТРО антитела код сваког болесника који почиње с лечењем или је на лечењу литијумом, како би се издвојиле особе код којих ће се касније пратити ниво TSH ради благовременог откривања тиреоидне инсуфицијенције.

Рођаци болесника с аутоимунском тиреоидном болешћу

АИТБ има мултифакторску основу и јавља се код генетски предиспонираних особа уз учешће фактора спољашње средине [35, 36]. Велика већина (око 80%) болесника са АИТБ имају позитивну породичну анамнезу, било за ГБ или ИТ. Испитивања на близанцима у Данској су показала значајно већу учесталост анти-ТРО антитела код првостепенних сродника болесника са АИТБ. Значајно већи број монозиготних близанаца (53%) имало је позитиван налаз на анти-ТРО антитела него дизиготних (22%). Због тога

одређивање *TPO* антитела може да укаже на могућност јављања АИТБ код рођака особа код којих се већ развила ова болест [36].

АНТИТЕЛА ПРЕМА РЕЦЕПТОРУ ЗА ТИРЕОТРОПИН

Рецептор за тиреостимулишући хормон – тиреотропин (*TSHR*) је рецептор везан за *G* протеин са великим ектодоменом, седмоструким трансмембранским делом и знатно мањим интрацелуларним сегментом. Тиреотропин преко свог рецептора регулише раст и функцију штитасте жлезде. После везивања са *TSH*, *TSHR* подлеже комплексним посттранслацијским променама са димеризацијом, интрамолекуларним раздвајањем и одбацивањем ектодомена. Сваки од ових процеса може да утиче на антигеничност *TSH* рецептора. Сматра се да је *TSHR* главни аутоантиген код ГБ, као и водећи кандидат за улогу аутоантигена у Грејвсовој офталмопатији и претибијалном микседему. Природни *TSHR* са својом тродимензионом структуром је најбољи стимулатор имунског одговора и стварања стимулишућег анти-*TSHR* антитела. Осим стимулишућих постоје и антитела која блокирају деловање *TSH* на *TSHR*, као и неутрална анти-*TSHR* антитела која се везују за *TSHR*, али не утичу на деловање *TSH*. Анти-*TSHR* антитела се могу одређивати компетитивним методама везивања анти-*TSHR* антитела за обележени *TSH* или везивања моноклонског анти-*TSHR* антитела за растворљиви *TSHR*. Биоогледи на режњевима хуманог или свињског тиреоидног ткива се због компликованије процедуре и потребе за посебном лабораторијском опремом данас ређе користе.

Стимулишућа анти-*TSHR* антитела

Стимулишућа анти-*TSHR* антитела су узрок хипертиреозидизма код ГБ и због тога су основни показатељи ове болести. Први пут су описана у семинарном чланку Адамса (*Adams*) и Пурвса (*Purves*) [3], када су названа *LATS* (*long-acting thyroid stimulator*). Касније је утврђено да су то имуноглобулини, а данас је у потпуности утврђена њихова хемијска и имунска природа. Стимулишућа анти-*TSHR* антитела се везују и активирају *TSHR* и изазивају претерану производњу тиреоидних хормона. Ова антитела пролазе плаценту и могу да доведу до пролазног хипертиреозидизма и струме код новорођенчета. Прецизни епитопи *TSHR* за које се везују анти-*TSHR* антитела нису познати. Разлог је њихова кватернерна структура. Ипак, све више је података који говоре у прилог тврђњи да је главно место везивања анти-*TSHR* антитела подјединица на рецептору за коју се везује и *TSH*:

1. стимулишућа анти-*TSHR* антитела болесника са ГБ могу се апсорбовати подјединицом протеина која има интактну кватернерну структуру;
2. стимулишућа *TSHR* антитела задржавају активност на химеричним *TSHR*;
3. индуковани су анимални модели ГБ имунизацијом *TSHR* алфа субјединицом;

4. конформационо везивно место стимулишућег *mAb* за *TSHR* створено код глодара је алфа субјединица (316 аминокиселина);
5. везивање стимулишућег *mAbs* не може да се постигне фрагментима мањим од 20 аминокиселина или денатурираним *TSHR*;
6. стимулишућа анти-*TSHR* антитела болесника са ГБ стимулишу *TSHR* који немају сулфурисане остатке тирозина на бета субјединици који су критично важни за везивање *TSH*.

Блокирајућа анти-*TSHR* антитела

Код аутоимунског тиреозидитиса (АТ) доминантно обољење је апоптоза тиреозидних фоликулских ћелија посредована *T* лимфоцитима [37]. Међутим, код болесника са АТ стварају се блокирајућа анти-*TSHR* антитела, која се везују за *TSHR*, али их не активирају, и истовремено се блокира везивање *TSH* за његова везивна места. Због тога се испољава инсуфицијенција тиреозидне функције. Блокирајућа анти-*TSHR* антитела се могу видети и код болесника са ГБ истовремено са стимулишућим варијететом и могу да буду узрок изненадним променама тиреозидне функције када се смењују фазе хипертиреозидизма и хипотиреозидизма. Дуго се сматрало да истовремено постојање оба варијетета антитела, стимулишућег и блокирајућег, објашњава слабу корелацију анти-*TSHR* антитела и врсте и обима метаболичког поремећаја код ГБ. Овај недостатак корелације се може објаснити и другим феноменима: инактивацијом анти-*TSHR* антитела, десензитизацијом и нисходном регулацијом коју остварују *TSHR* антитела. Врло ретко блокирајућа антитела могу изазвати пролазни неонатусни хипотиреозидизам због проласка блокирајућих антитела кроз плаценту до фетуса.

Неутрална анти-*TSHR* антитела

Неутрална *TSHR* антитела су, према дефиницији, инертна и не утичу на везивање *TSH* за *TSHR* или на функцију *TSHR*. Неутрална антитела код АИТБ први пут су описана код човека са ГБ и моноклонском гамапатијом [38]. Многи серуми особа оболелих од ГБ везују кратке пептидне фрагменте *TSHR* који могу да представљају неутрална анти-*TSHR* антитела. За сада нема довољно радова који би објаснили ову класу анти-*TSHR* антитела и њихову улогу у имунопатологији АИТБ.

Тестови за одређивање анти-*TSHR* антитела

Компјетитивни тестови

Када су успели покушаји да се молекула *TSH* обележи без поремећаја њене структуре, постало је могуће да се она користи у тестовима компетитивног везивања. Први тестови су користили хомогенат сирове мембране фоликулских тиреозидних ћелија свиње, али је било много неспецифичног везивања. Технике

пречишћавања *TSHR* су значајно поправиле њихову употребну вредност. Антитела према *TSHR* из серума болесника инхибишу везивање обележеног *TSH* на дозно и временски зависан начин. Ови тестови само откривају присуство *TSHR* антитела, али не и њихове биолошке особености и не откривају неутрална анти-*TSHR* антитела. Најновија генерација тестова користи моноклонско анти-*TSHR* антитело (*TSHR-mAb*) [39], које се везује за *TSHR* са великом специфичношћу. Овом техником више од 95% болесника са не леченом ГБ има позитивна анти-*TSHR* антитела.

Биоџестиви

Анти-*TSHR* антитела се могу одредити у тестовима *in vivo* на основу ослобађања радиоактивног изотопа јода из штитасте жлезде заморчета. Много чешће је у употреби тест генерисања *sAMP* у тиреоидним ћелијама које испољавају *TSHR*. Стимулишућа анти-*TSHR* антитела изазивају стимулацију *TSHR* и појачавају акумулацију *sAMP*. Блокирајућа анти-*TSHR* антитела могу се мерити откривањем смањења стварања *sAMP* под дејством *TSH*. За обе технике данас постоје комерцијални китови.

Клиничка примена тестова за *TSHR* антитела

Могуће клиничке индикације за мерење анти-*TSHR* антитела су збирно приказане у табели 2.

АНТИТЕЛА ПРЕМА ТИРЕОГЛОБУЛИНУ

Тиреоглобулин (*Tg*) је солубилни гликопротеид молекуле тежине од 660 *kDa* изграђен од две идентичне субјединице. Веома је хетерогена молекула због посттранслацијских модификација молекуле (гликолизација, јодинација, сулфација итд). У току процеса синтезе и ослобађања тиреоидних хормона *Tg* се полимеризује и разграђује. Због тога је и имунска структура молекуле *Tg* изузетно комплексна. Тиме се објашњава зашто је тешко стандардизовати огледе за *Tg* антитела (као и за тиреоглобулин сам по себи).

ТАБЕЛА 2. Клиничке индикације за одређивање *TSHR* антитела.
TABLE 2. Clinical indications of *TSHR* Ab determinations.

Грејвсова болест Graves' disease
Дијагноза Diagnosis
Предвиђање ремисије у медикаментној терапији Prediction of possible remission
Хипотиреоидизам Hypothyroidism
Грејвсова офталмопатија Graves' ophthalmopathy
Оцена активности болести Determination of disease activity
Полинодозна струма са хипертиреозидизмом Multiglandular goiter and hyperthyroidism
Процена неонатусног хипертиреозидизма Neonatal hyperthyroidism
Разликовање хипертиреозидизма од тиреотоксичне фазе тиреоидитиса Differentiation between hyperthyroidism and transient thyrotoxic phase of thyroiditis

Поступци за мерење антитела према тиреоглобулину

Као и методе за анти-*TPO* антитела, и поступци за одређивање антитела према тиреоглобулину (*TgAt*) су се развијали од имунофлуоресценције у режњевима тиреоидног ткива, преко пасивне аглутинације танираних еритроцита (*TRCA*), до савремених компетитивних и некомпетитивних тестова. Технички напредак је поправио и сензитивност и специфичност поступака. Тестови се још проверавају према сировим препаратима тиреоглобулина, иако се данас покушава стандардизација према примарном стандардном препарату. Због недостатка интернационалног стандарда, приметне су разлике у квалитету појединих тестова. Поред тога, хетерогеност самих *TgAt* је узрок да се добијају веома неусаглашени резултати у великим популацијским студијама [40]. Разноликост је много израженија код болесника са АИТБ, док се много мање запажа код особа код којих је дијагностикован диферентовани тиреоидни карцином [41]. Интерметодске разлике у тестовима за *TgAt* испољавају квалитативне разлике у афинитету *TgAt* и специфичностима епитопа у различитим узорцима серума код особа са имунским тиреоидним поремећајима.

Клиничка употреба мерења антитела према тиреоглобулину

Нема сигурних доказа вредности мерења *TgAt* у дијагностиковању и прогнози аутоимунских тиреоидних поремећаја. Позната студија *National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III)* саопштава да код 3% особа без фактора ризика за АИТБ могу да се измере *TgAt* а без истовременог присуства анти-*TPO* антитела [40]. Пошто код ових особа није утврђен пораст нивоа *TSH*, закључено је да мерење *TgAt* није користан тест за АИТБ на подручјима са нормалним уносом јода (Табела 3). На подручју са недовољним уносом јода *TgAt* могу бити од помоћи у откривању АИТБ код особа са полинодозном струмом.

Одређивање *TgAt* је корисно и у праћењу ефекта надокнаде јода на подручјима са недостатком јода у води и храни, пошто је јодирана молекула *Tg* знатно имуногенија. Мерење *TgAt* у серуму је обавезно и ка-

ТАБЕЛА 3. Мерење антитела према тиреоглобулину у ненеопластичким стањима.
TABLE 3. *TgAt* determinations in non-neoplastic states.

У подручјима са нормалним уносом јода није потребно одређивати истовремено и анти-*TPO* *At* и *TgAt*, јер се код анти-*TPO* *At* негативних и *TgAt* позитивних особа не развија аутоимунска тиреоидна болест.

In iodine sufficient area, it is not necessary to determinate *TPOAb* and *TgAb* simultaneously. *TgAb* positive but *TPOAb* negative persons will not develop AITB.

У подручјима са недостатком јода одређивање *TgAt* може да буде од помоћи у откривању аутоимунске тиреоидне болести код особа са нодозном струмом.

In iodine deficient area, *TgAt* determination may help in detecting the AITB in persons with multinodular goiter.

Праћење надокнаде јода у ендемским подручјима.

Estimation of iodine supplementation.

да се одређује концентрација *Tg*, пошто висок титар ових антитела може да утиче на добијене вредности одређивања *Tg*. Ово нарочито треба имати на уму код особа с оперисаним диферентованим тиреоидним карциномом [41]. Серијска мерења *TgAt* могу бити тзв. сурогат показатељ ако су позитивна код особа код којих није могуће користити *Tg* као показатељ тумора (остатак тиреоидног ткива после операције). Код хируршки лечене особе са позитивним *TgAt* показује се негативан налаз у току једне до четири године ако нема рецидива болести. У супротном, код болесника са резидуалним тумором после лечења се задржава мерљива концентрација *TgAt*. У ствари, пораст *TgAt* је често први индикатор рецидива тумора код ових особа.

АИТБ је често праћена и другим болестима специфичним, односно неспецифичним за орган вероватно и због тога што деле заједничке генетске и факторе спољашње средине. Ова удруженост се нарочито примећује код аутоимунских полигландуларних синдрома. АИТБ је једна од три главне ендокринопатије у типу 2 и забележена је код 4% болесника у типу 1. Данас још нема сагласности о томе да ли је оправдано трагање за другим аутоимунским ендокриним и неендокриним болестима код особа с аутоимунским обољењем. Подједнако се воде расправе о економској оправданости тестирања других имунских стигмата код особа са доказаном АИТБ. Због тога се овде наводи само краћи преглед најчешћих имунских показатеља других болести које су специфичне за орган који би могли да се тестирају ако се испуне клинички разлози за сумњу на придружену аутоимунску болест.

АНТИТЕЛА ПРЕМА ПАРИЈЕТАЛНИМ БЕЛИЈАМА ЖЕЛУЦА И УНУТРАШЊЕМ ФАКТОРУ

Антитела према паријеталним ћелијама желуца (*PC*) и унутрашњем фактору (*IF*) су показатељ пернициозне анемије, која настаје због недостатка цијанкобаламина. Поред макроцитне анемије налази се аутоимунски хронични гастритис који захвата тело и фундус желуца, али не и антрум. Ток болести је спор и прогресиван и може да траје и више од 20 година док се не испоји у клиничкој слици. Сматра се да код 2% популације старије од 60 година постоји ова форма гастритиса с анемијом, која се не препознаје и не лечи адекватно. Учесталост пернициозне анемије је око два пута већа код жена [42]. Код пернициозне анемије циљ аутоантитела су гастричне паријеталне ћелије којих нема у антруму и унутрашњи чинилац. Антитела су непосредно усмерена према аденозинтрифосфатази паријеталних ћелија, фиксирају комплемент *in vitro*, али, као и за анти-*TPO* антитела у АИТБ, нема доказа да имају било какав патогени учинак.

Према унутрашњем чиниоцу (*IF*), постоје две класе аутоантитела. Блокирајућа (тип *I*) аутоантитела препознају места везивања цијанкобаламина за *IF* и тиме спречавају транспорт витамина B_{12} од желуца до места апсорпције витамина у илеуму. Друга (тип

II) аутоантитела не интерферишу са транспортом витамина B_{12} . Она су забележена код око 70% (тип *I*) и 34% (тип *II*) болесника са пернициозном анемијом. Примена нових поступака може да повећа фреквенцију откривања антитела тип *II*. Ова антитела су ретка у аутоимунском гастритису који није праћен пернициозном анемијом, те су због тога специфични, иако нису довољно осетљив показатељ болести.

АДРЕНАЛНА АУТОАНТИТЕЛА

Кључни аутоантиген за антитела у Адисоновој болести је адренал-специфична цитохром 21-хидроксилаза (*21-OH*). Код неких болесника утврђена су и антитела према лијазама које одвајају бочни ланац или према 17-бета-хидроксилази, али су она много чешћа код аутоимунског полигландуларног синдрома тип 1 [43]. Имунофлуоресцентне технике и технике имунопреципитације су скоро подједнако ефикасне у откривању ових аутоантитела када се користи рекомбинантна 21-хидроксилаза. Применом било којег од ових поступака антитела се утврђују код око 80% болесника с аутоимунском Адисоновом болешћу, док су особе са неаутоимунском хроничном инсуфицијенцијом коре надбубрега увек негативне на ова антитела. Поузданост ових техника је таква да се данас говори о супклиничкој Адисовој болести, стању са позитивним антиадреналним антителима без биохемијске и клиничке слике адреналне инсуфицијенције. Оваква ситуација је посебно честа када се болесник са другим аутоимунским обољењем специфичним за орган, пре свега са АИТБ, тестира на ова антитела. Због тога је мерење антиадреналних, односно *21-OH* антитела корисно за откривање претеће адреналне инсуфицијенције. Код особа са вишим титром антиадреналних антитела постоји већа вероватноћа за развој Адисонове болести. Ипак, нису сви болесници с аутоимунском Адисоновом болешћу позитивни на *21-OH* антитела, нити се код свих особа које имају позитивна антитела развија адренална инсуфицијенција. Због тога се саветује да се код особа са позитивним титром антиадреналних антитела једном годишње процењује адренална резерва [44].

РЕУМАТОИД-ФАКТОР

Реуматоид-фактор је антитело које везује *Fc* фрагмент *IgG*, а забележен је код око 80% особа оболелих од реуматоидног артритиса [45]. Од свих аутоантитела која дају позитивну реакцију на тесту за реуматоид-фактор, само су антитела која садрже цитрулин довољно специфична за дијагностиковање реуматоидног артритиса. Негативна предиктивна вредност ових антитела је 75%, док је позитивна скоро 100%. Уобичајени тестови за реуматоид-фактор су неспецифични и недовољно сензитивни као дијагностичко и предиктивно средство. Због тога се она користе у трагању за придруженим аутоимунским обољењем уз постојећу АИТБ само ако постоје и клинички показатељи могућег реуматолошког обољења.

АНТИМИТОХОНДРИЈСКА АНТИТЕЛА

Антимитохондријска антитела реагују са *E2* компонентама 2-оксоацидодехидрогеназе митохондријама и посебно са *E1* компонентом пируват дехидрогеназа комплекса. Утврђена су код већине особа оболелих од примарне билијарне цирозе јетре [46]. Учесталост примарне билијарне цирозе је вероватно потцењена, а забележена је код 0,01% популације, посебно жена старијих од 40 година. Антимитохондријска антитела се могу уочити много пре него што се болест клинички испољи, а њихово присуство је у чврстој корелацији са напредовањем болести. Ипак, до 15% болесника са примарном билијарном цирозом може имати негативан резултат теста за одређивање антимитохондријских антитела, нарочито ако се користе стандардни имунофлуоресцентни тестови.

АНТИТЕЛА ПРЕМА ТКИВНИМ ТРАНСГЛУТАМИНАЗАМА

Ендомизигална аутоантитела се применом имунофлуоресцентних техника могу уочити код великог броја болесника са целијачном болешћу. Њихова осетљивост је 85-98%, а специфичност 97-100% [47]. Ткивне трансглутаминазе су циљни антиген ових антитела, док су тестови за глијадинска антитела много мање специфична и осетљива. Целијачна болест је много чешћа него што се раније мислило, пошто се благи, супклинички облици болести теже откривају. Тестови на ендомизигална антитела и антитела према трансглутаминази показују велику предиктивну вредност за развој болести и корисна су за издвајање болесника код којих ће се касније урадити биопсија слезнице танког црева.

АНТИТЕЛА ПРЕМА РЕЦЕПТОРУ ЗА АЦЕТИЛ-ХОЛИН (*AChR*)

Myasthenia gravis је ретка болест а њена преваленција је око пет оболелих на 100.000 становника [48]. Посебан значај мијастеније је у диференцијалној дијагнози према ГБ. Проминентан клинички знак ГБ је изразита слабост проксималне мускулатуре доњих екстремитета. Антитела према *AChR* су утврђена код око 85% особа оболелих од мијастеније. Код само 50% болесника с окулусном мијастенијом постоје позитивна *AChR* антитела. Ова антитела су несумњиво патогена. Серонегативна мијастенија је последица присуства антитела према киназама специфичним за мишић и другим аутоантигенима.

ЗАКЉУЧАК

Напредак науке и технологије је несумњиво утицао да данас у великој мери са високим степеном поузданости можемо благовремено да дијагностикujemo АИТБ, често у раној, преклиничкој фази. С друге стране, нерационално коришћење тестова непотребно оптерећује болеснике, њихове породице и фондо-

ве здравства. Због тога је неопходно да се примена лабораторијских тестова у дијагностиковању АИТБ спроводи искључиво у клинички оправданим случајевима, уз пажљиву процену вредности добијеног налаза и ризика да се клинички значајан проблем превиди.

ЛИТЕРАТУРА

- Rose NR, Witebsky E. Studies in organ specificity. Changes in the thyroid glands of rabbits following active immunization with rabbit thyroid extracts. *J Immunol* 1956; 76:417-27.
- Roitt IM, Doniach D, Campbell PN, Vaughan Hudson R. Autoantibodies in Hashimoto's disease (lymphadenoid goitre). *Lancet* 1956; ii:820-1.
- Adams DD, Purves HD. Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. *Proceedings of the University of Otago Medical School* 1956; 34:11-2.
- Marcocci C, Chiovato L. Thyroid-directed antibodies. In: BL, URD, editors. *Thyroid*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p.414-31.
- Chiovato L, Bassi P, Santini F, et al. Antibodies producing complement-mediated thyroid cytotoxicity in patients with atrophic or goitrous autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:1700-5.
- Guo J, Jaume JC, Rapoport B, McLachlan SM. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG1, but not IgG4, autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:925-31.
- Kuijpers JL, Hann-Meulman M, Vader HL, et al. Cell-mediated immunity and postpartum thyroid dysfunction: a possibility for the prediction of disease? *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1959-66.
- Fung HY, Kologlu M, Collison K, et al. Postpartum thyroid dysfunction in Mid Glamorgan. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988; 296:241-4.
- Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, et al. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:661-9.
- McLachlan SM, McGregor A, Smith BR, Hall R. Thyroid-autoantibody synthesis by Hashimoto thyroid lymphocytes. *Lancet* 1979; i:162-3.
- McLachlan SM, Pegg CA, Atherton MC, et al. Subpopulations of thyroid autoantibody secreting lymphocytes in Graves' and Hashimoto thyroid glands. *Clin Exp Immunol* 1986; 65:319-28.
- Weetman AP, McGregor AM. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocr Rev* 1994; 15:788-830.
- Yoshida H, Amino N, Yagawa K, et al. Association of serum anti-thyroid antibodies with lymphocytic infiltration of the thyroid gland: studies of seventy autopsied cases. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 46:859-62.
- Saravanan P, Dayan CM. Thyroid autoantibodies. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30:315-37.
- Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, et al. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid* 2003; 13:3-126.
- Zophel K, Saller B, Wunderlich G, et al. Autoantibodies to thyroperoxidase (TPOAb) in a large population of euthyroid subjects: implications for the definition of TPOAb reference intervals. *Clin Lab* 2003; 49:591-600.
- Lacroix-Desmazes S, Mouthon L, Kaveri SV, et al. Stability of natural self-reactive antibody repertoires during aging. *J Clin Immunol* 1999; 19:26-34.
- Lacroix-Desmazes S, Kaveri SV, Mouthon L, et al. Self-reactive antibodies (natural autoantibodies) in healthy individuals. *J Immunol Methods* 1998; 216:117-37.
- Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, et al. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *JAMA* 2004; 291:228-38.
- Helfand M. Screening for subclinical thyroid dysfunction in non-pregnant adults: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2004; 140:128-41.
- Toft A. Increased levothyroxine requirements in pregnancy – why,

- when, and how much? *N Engl J Med* 2004; 351:292-4.
22. Alexander EK, Marqusee E, Lawrence J, et al. Timing and magnitude of increases in levothyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism. *N Engl J Med* 2004; 351:241-9.
 23. Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis. *N Engl J Med* 2003; 348:2646-55.
 24. Lazarus JH, Parkes AB, Premawardhana LD. Postpartum thyroiditis. *Autoimmunity* 2002; 35:169-73.
 25. Stagnaro-Green A. Clinical review 152: postpartum thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4042-7.
 26. Gerstein HC. How common is postpartum thyroiditis? A methodologic overview of the literature. *Arch Intern Med* 1990; 150:1397-400.
 27. Kuijpers JL, Hann-Meulman M, Vader HL, et al. Cell-mediated immunity and postpartum thyroid dysfunction: a possibility for the prediction of disease? *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1959-66.
 28. Lazarus JH, Hall R, Othman S, et al. The clinical spectrum of postpartum thyroid disease. *QJM* 1996; 89:429-35.
 29. Ball S. Antenatal screening of thyroid antibodies. *Lancet* 1996; 348:906-7.
 30. Trbojević B. Uticaj amiodarona na tiroidnu funkciju. *Kardiologija* 1998; 19(1-2):33.
 31. Prummel MF, Laurberg P. Interferon-alpha and autoimmune thyroid disease. *Thyroid* 2003; 13:547-51.
 32. Carella C, Mazzioti G, Amato G, Braverman LE, Roti. Interferon-alpha-related thyroid disease: pathophysiological, epidemiological, and clinical aspects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 80(8):3656-61.
 33. Ahmadi-Abhari SA, Ghaeli P, Fahimi F, et al. Risk factors of thyroid abnormalities in bipolar patients receiving lithium: a case control study. *BMC Psychiatry* 2003; 3:4.
 34. Lazarus JH. The effects of lithium therapy on thyroid and thyrotropin-releasing hormone. *Thyroid* 1998; 8:909-13.
 35. Tait KF, Gough SC. The genetics of autoimmune endocrine disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 59:1-11.
 36. Prummel MF, Strieder T, Wiersinga WM. The environment and autoimmune thyroid diseases. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:605-18.
 37. Stassi G, Todaro M, Di Liberto D, et al. Control of target cell survival in thyroid autoimmunity by T helper cytokines via regulation of apoptotic proteins. *Nat Immunol* 2000; 1:483-8.
 38. Tonacchera M, Costagliola S, Cetani F, et al. Patient with monoclonal gammopathy, thyrotoxicosis, pretibial edema and thyroid-associated ophthalmopathy: demonstration of direct binding of autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Eur J Endocrinol* 1996; 134:97-103.
 39. Sanders J, Evans M, Premawardhana LD, et al. Human monoclonal thyroid stimulating autoantibody. *Lancet* 2003; 362:126-8.
 40. Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, et al. Serum thyrotropin, thyroxine and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:489-99.
 41. Spencer CA, Wang C, Fatemi S, Guttler RB, Takeuchi M, Kazaryan M. Serum thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1121-7.
 42. Burman P, Ma J-Y, Karlsson FA. Autoimmune gastritis and pernicious anaemia. In: Weetman AP, editor. *Endocrine autoimmunity and associated conditions*. Kluwer: Academic Publishers; 1998. p.243-67.
 43. Betterle C, Dal-Pra C, Mantero F, et al. Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr Rev* 2002; 23:327-64.
 44. Laureti S, De-Bellis A, Muccitelli VI, et al. Levels of adrenocortical autoantibodies correlate with the degree of adrenal dysfunction in subjects with preclinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3507-11.
 45. Kavanaugh AF. Evidence-based use of rheumatologic laboratory tests. *Arch Intern Med* 2004; 164:109.
 46. Palmer JM, Kirby JA, Jones DE. The immunology of primary biliary cirrhosis: the end of the beginning? *Clin Exp Immunol* 2002; 129:191-7.
 47. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002; 346:180-8.
 48. Vincent A, Bowen J, Newsom-Davis J, et al. Seronegative generalised myasthenia gravis: clinical features, antibodies, and their targets. *Lancet* 2003; 2:99-106.

DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE THYROID DISEASE

Božo TRBOJEVIĆ¹, Snežana ĐURICA²¹Institute of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Disorders, Clinical Centre of Serbia, Belgrade;²Centre for Thyroid Gland Diseases and Hormone Induced Osteoporosis, Department of Internal Medicine, Clinical Hospital Centre „Zvezdara“, Belgrade

ABSTRACT

Autoimmune thyroid disease (AITD) is the most common organ specific autoimmune disorder usually resulting in dysfunction (hyperfunction, hypofunction or both) of the thyroid gland. The syndromes comprising autoimmune thyroid disease are many intimately related illnesses: Graves' disease with goitre, hyperthyroidism and, in many patients, associated ophthalmopathy, Hashimoto's thyroiditis with goitre and euthyroidism or hypothyroidism but also thyroid dysfunction occurring independently of pregnancy and in 5-6% of postpartum women and thyroiditides induced by different drugs and other environmental influences. The immunological mechanisms involved in these diseases are closely related, while the phenotypes probably differ because of the specific type of immunological response that occurs. The syndromes are connected together by their similar thyroid pathology, similar immune mechanisms, co-occurrence in family groups, and transition from one clinical picture to another within the same individual over time. In some patients, other organ specific and non-organ specific autoimmune syndromes are associated with autoimmune thyroid disease, including pernicious anemia, vitiligo, myasthenia gravis, primary adrenal autoimmune disease, celiac disease, rheumatoid arthritis or lupus. Thyroid peroxidase, TPO, the primary enzyme involved in thyroid hormone synthesis, was initially identified in 1959 as the "thyroid microsomal antigen". It is uncertain whether TPO autoantibodies or TPO-specific T cells are the primary cause of thyroid inflammation, which can lead, in some individuals, to thyroid failure and hypothyroidism. TPOAbs are the hallmark of AITD and are present in almost all patients with Hashimoto's thyroiditis, in two-thirds of patients with postpartum thyroiditis and also in

75% of patients with Graves' hyperthyroidism. The antibodies are mainly produced by lymphocytic infiltrate in the thyroid gland and only to a small extent by regional lymph nodes or the bone marrow. Unlike antibodies against thyroglobulin (Tg), TPO antibodies are capable of inducing antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. Antibodies to TSH-R mimic the function of TSH, and cause disease by binding to the TSH-R and stimulating (or inhibiting) thyroid cells. The TSHR, a member of the G protein-coupled receptor family with seven membrane-spanning segments. Patients with autoimmune thyroid disease may have both stimulating and blocking antibodies in their sera, the clinical picture being the result of the relative potency of each species; blocking antibodies seem more common in Graves' patients with ophthalmopathy compared to those without this complication. The major T cell epitopes are heterogeneous and T cell reactivity against certain TSH-R epitopes has been present in high proportion in normal subjects. More diversified response to TSH-R, with heterogeneity of epitope recognition by TSAb, is predictive of likely remission after antithyroid drug treatment for Graves' disease.

Key words: autoimmune thyroid disease; hyperthyroidism; hypothyroidism

Božo TRBOJEVIĆ
Institut za endokrinologiju, dijabetes i
bolesti metabolizma
Klinički centar Srbije
Dr Subotića 13, 11000 Beograd
Tel: 011 361 6317
E-mail: btrbojev@eunet.yu