

Laboratorijska dijagnostika Gravesove bolesti

Bardak, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:963520>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

**Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska
dijagnostika**

Ivana Bardak

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA
GRAVESOVE BOLESTI**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

**Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska
dijagnostika**

Ivana Bardak

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA
GRAVESOVE BOLESTI**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

Rad je ostvaren u KBC-u Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Sanja Mandić.

Rad ima 21 list, 3 tablice i 2 slike.

ZAHVALA

Iskreno zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Sanji Mandić na stručnim savjetima, uputama, znanju i pomoći pri izradi diplomskog rada.

Srdačna zahvala medicinskom osoblju Kliničkog bolničkog centra Osijek (KBC Osijek).

Hvala svim kolegama i ostalim dragim osobama na lijepim danima tijekom studiranja.

Najveće hvala mojoj divnoj obitelji i dečku na ljubavi i razumijevanju. Njima dugujem zahvalnost za vjeru i trajnu podršku tijekom studiranja.

SADRŽAJ

1	UVOD	1
1.1	Anatomija i fiziologija.....	1
1.2	Kontrola stvaranja i izlučivanja hormona štitnjače	1
1.3	Ispitivanje funkcije štitnjače	1
1.4	Bolesti štitnjače.....	2
1.5	Gravesova bolest.....	3
1.5.1	Epidemiologija	3
1.5.2	Klinička slika.....	4
1.5.3	Laboratorijsko praćenje	4
2	HIPOTEZA	5
3	CILJEVI	6
4	ISPITANICI I METODE	7
4.1	Ustroj studije.....	7
4.2	Ispitanici	7
4.3	Metode	7
4.4	Statističke metode.....	10
5	REZULTATI.....	11
6	RASPRAVA	14
7	ZAKLJUČAK	16
8	SAŽETAK	17
9	SUMMARY	18
10	LITERATURA.....	19
11	ŽIVOTOPIS	21

POPIS KRATICA

T3: trijodtironin

T4: tetrajodtironin, tiroksin

FT3: slobodni trijodtironin

FT4: slobodni tiroksin

TSH: tireotropin stimulirajući hormon

Tg: tireoglobulin

TBG: tiroksin vezni protein

TRH: hormon koji oslobađa tireotropin

GD: Gravesova bolest

TSHR: tireotropin stimulirajući hormon receptor

TPOAt: antitijela na tireoidnu peroksidazu

TGAt: antitijela na tireoglobulin

TSI: tireoidno stimulirajući imunoglobulini

TBI: tireoidno blokirajući imunoglobulini

1 UVOD

1.1 Anatomija i fiziologija

Štitnjača (lat. *glandula thyroidea*) je najveća neparna endokrina žlijezda. Sastoji se od desnog i lijevog režnja koje povezuje isthmus, a nalazi se u donjem dijelu vrata ispred dušnika. Teži oko 20 grama (1). Građena je od žljezdanog tkiva parenhima i vezivne strome. Osnovna uloga štitne žlijezde je stvaranje i lučenje tiroksina (T4) i trijodtironina (T3). Hormoni štitnjače utječu na cjelokupan rast i razvoj organizma, mnoge organske sustave, kretanje, spavanje, probavu te rad ostalih žlijezda. Gotovo nema organa kojemu za rad nisu potrebni hormoni štitnjače (2).

1.2 Kontrola stvaranja i izlučivanja hormona štitnjače

Stvaranje i izlučivanje hormona štitnjače je pod utjecajem tireotropin stimulirajućeg hormona (engl. *thyrotropin-stimulating hormone*, TSH). TSH je glavni regulator morfološkog i funkcionalnog stanja štitnjače (1). Hipotalamus, hipofiza i štitnjača u međusobnom su djelovanju putem negativne povratne sprege. Jod je dio hormona štitnjače, neophodan za njihovu sintezu. Sinteza hormona odvija se u nekoliko koraka, od prijenosa joda u tireocyte uz tireoidnu peroksidazu (TPO) i vodikov peroksid (H_2O_2), spajanja na tireoglobulin (Tg) do stvaranja i izlučivanja T4 i T3 u krvotok. Vezanjem na položaje 3,5,3' nastaje T3, a vezanjem na sva četiri položaja 3,5,3',5' nastaje T4 (1). Oslobođeni jod šalje se ponovno u krvotok i služi za daljnju uporabu u štitnjači. TSH pojačava unos joda u štitnjaču te potiče sintezu i otpuštanje hormona. T3 i T4 većinom su vezani na proteine plazme. T4 vezan je na tiroksin vezni globulin (engl. *thyroxine-binding globulin*, TBG), transtiretin (TTR) i albumin. TBG je glavni regulator prijenosa hormona štitnjače u krvotoku koji prenosi oko 70 % hormona štitnjače (3). U tom regulacijskom sustavu sudjeluje i hormon koji oslobađa tireotropin (engl. *thyrotropin-releasing hormone*, TRH) koji se otpušta iz hipotalamusa i stimulira oslobađanje TSH-a iz hipofize.

1.3 Ispitivanje funkcije štitnjače

Laboratorijska dijagnostika štitnjače provodi se tako da se prvo procjenjuje funkcija štitnjače, a zatim se provode testiranja za utvrđivanje uzroka bolesti.

Prema smjernicama radne skupine Hrvatskog društva za štitnjaču racionalna dijagnostika poremećaja funkcije štitnjače trebala bi se provoditi preporučenim algoritmima koji bi omogućili bržu dijagnostiku i kvalitetniju skrb. Međutim, smjernice i algoritmi nisu namijenjeni kao rigidni standard, već je kod svakog bolesnika neophodan individualni pristup dijagnostici bolesti štitnjače (1).

Određivanje TSH-a u serumu preporučeni je prvi test za otkrivanje poremećaja funkcije štitnjače, posebice kod probira na hipotireozu ili hipertireozu. Ako su vrijednosti unutar referentnih intervala, radi se o eutireozu i uglavnom nije potrebna daljnja obrada. U daljnjoj dijagnostici mogu se mjeriti slobodne i ukupne frakcije hormona štitnjače: FT3, FT4 i/ili T3, T4. Trudnoća, korištenje oralnih kontraceptiva ili estrogena može dovesti do povećanja koncentracije TBG-a, što dovodi do porasta vrijednosti ukupnih hormona štitnjače. Ta stanja koja utječu na promjenu specifičnih proteinskih nosača ne utječu na promjenu funkcije štitnjače kao ni na razinu slobodnih frakcija hormona štitnjače, pa se određivanje FT3 i FT4 smatra dijagnostički pouzdanijima u takvim situacijama (4). Konačno, kada se na temelju nalaza TSH-a i hormona štitnjače utvrdi poremećaj, slijede testovi koji se koriste za utvrđivanje uzroka bolesti.

1.4 Bolesti štitnjače

Prema osnovnoj podjeli bolesti štitnjače dijele se na poremećaje strukture i poremećaje funkcije štitnjače. Poremećaji strukture su čvorovi, a poremećaji funkcije smanjen ili ubrzan rad. Poremećaji funkcije štitnjače česti su u populaciji, osobito u žena (1).

Hipotireoza nastaje zbog smanjenog rada funkcije štitnjače. Većinom se radi o primarnoj hipotireozu (95 %), čiji je uzrok nastanka najčešće kronični autoimuni Hashimotov tireoiditis (5). Može nastati i kao posljedica liječenja Gravesove hipertireoze jodom-131. U hipotireozu vrlo je važna dob, jer, ako se kod djece na vrijeme ne dijagnosticira, može dovesti do trajnih posljedica kao što su poremećen razvoj mozga i zaostajanje u psihofizičkom razvoju. Klinička slika očituje se općom slabosti, hladnoćom i suhoćom sluznica, porastom tjelesne težine, opstipacijom, umorom, usporenim govorom itd. Može doći do alopecije, a nokti mogu biti tanki i deformirani (1). Liječenje oslabljenog rada štitnjače temelji se na uzimanju nadomjesne terapije hormona u tabletama.

Hipertireoza nastaje uslijed povećane proizvodnje hormona u štitnjači. Najčešći je uzrok autoimuna Gravesova (Basedowljeva) bolest (engl. *Graves disease*, GD). Povišene vrijednosti

hormona dovode do ubrzanja svih procesa u organizmu i pojačane kalorigeneze, što rezultira fibrilacijom atrija, znojenjem, gubitkom tjelesne težine, mršavljenjem, mišićnom slabosti, miokardiopatijom itd. (6). U muškaraca može biti prisutna oligospermija i poremećaj morfologije i pokretljivosti spermija (1). Početak liječenja hipertireoze farmakološki je, uzimaju se tablete za smanjenje proizvodnje hormona, zatim operativno/kirurško liječenje i liječenje radioaktivnim jodom-131. Tireotoksikoza je širi pojam od hipertireoze jer obuhvaća sva stanja s povišenim serumskim vrijednostima hormona, uključujući upale štitnjače itd.

1.5 Gravesova bolest

Autoimune bolesti nastaju kao rezultat gubitka imunološke tolerancije organizma na vlastite antigene. Očituju se stvaranjem autoantitijela. Uzroci nastanka nisu potpuno otkriveni i definirani. Uglavnom se sumnja na različite infekcije bakterijama, virusima, gljivicama ili parazitima. U razvoju autoimunih oboljenja sudjeluje i narušena fiziološka flora organizma, različiti alergeni, stres, način života i hipovitaminoze. Proizvodnja visokoafinitetnih antitijela su glavna karakteristika autoimunih bolesti (7).

Gravesova (Basedowljeva) bolest (GD) je među čestim autoimunim oboljenjima. Najčešći je uzrok hipertireoze, pa se još naziva i autoimuna hipertireoza (6). Posljedica je stvaranja antitijela. Autoreaktivni pomoćnički T-limfociti zbog poremećenog mehanizma imunološkog sustava nisu eliminirani te potiču autoreaktivne B-limfocite u stvaranju antitijela na jedan ili više antigena (1). Stvorena antitijela vežu se i aktiviraju TSH receptor (TSHR) uzrokujući prekomjerno oslobađanje hormona štitnjače i kliničku sliku hipertireoze (8). Klasično liječenje autoimunih bolesti uglavnom uključuje lijekove koji reduciraju imunološku aktivnost, no jedinstveni lijek koji djeluje na uzročnika te bolesti zasad ne postoji (8). Liječenje GD-a obuhvaća tri modela: antitireoidne lijekove, operativno/kirurško liječenje i radioaktivni jod-131 (8).

1.5.1 Epidemiologija

GD nastaje u osoba s genetičkom sklonošću i uz djelovanje vanjskih čimbenika (7). U područjima s dostatnim unosom joda obuhvaća 90 % svih slučajeva hipertireoze (1). Obično se javlja kod osoba mlađih od 40 godina te je 7 – 8 puta češća kod žena nego kod muškaraca. Kod žena se najčešće javlja u dobi između 30 i 60 godina. Prema Nacionalnom informativnom centru za zdravlje žena, GD pogađa 2 % žena u nekom trenutku života (8).

1.5.2 Klinička slika

U mnogih bolesnika klinička slika može biti nejasna. Obično se sastoji od razdoblja remisije, gdje ima malo ili nikakvih simptoma, zatim od naglih relapsa, odnosno poboljšanja. Osobe s GD-om mogu imati uobičajene simptome hipertireoze kao što su: umor, slabost mišića, razdražljivost, problemi sa spavanjem, netolerancija topline, gubitak težine itd. Uz općenitu kliničku sliku hipertireoze, GD karakterizira trijas simptoma: ubrzan rad srca, egzoftalamus i difuzna struma. Oftalmopatija se javlja u 25 %, a dermatopatija u 1,5 % bolesnika s GD-om (9). Pacijenti, pušači s oftalmopatijom imaju veći rizik od pogoršanja stanja GD-a. Unatoč tome što se GD definira kao organ-specifična autoimuna bolest, može zahvatiti i mnoge organske sustave i nastati kao komplikacija tireotoksikoze (1). Najčešće obuhvaća oči u vidu oftalmopatije (engl. *Graves ophtalmopathy*) i kožu u vidu dermatopatije (engl. *Graves dermopathy*). Visoke vrijednosti štitnjače utječu i na kosti, srce, jetru i druge organe. Gravesova bolest, Hashimotov tireoiditis i oftalmopatija mogu postojati kao odvojene bolesti, ali se mogu javiti po dva ili sva tri stanja zajedno (5). Takvi bolesnici mogu imati i druge autoimune bolesti poput Diabetes mellitusa. Vrlo je bitna rana dijagnoza i liječenje, kako bi se poboljšala kvaliteta života svakog bolesnika, te kako bi se spriječile neželjene posljedice.

1.5.3 Laboratorijsko praćenje

Laboratorijsko testiranje potrebno je za postavljanje dijagnoze GD-a, pomoć pri procjeni ozbiljnosti, praćenja stanja i pomaganja u planiranju terapije kod oboljelih. Testiranje započinje određivanjem TSH-a, čije su vrijednosti obično niske, dok su vrijednosti FT3, FT4, T3 i T4 često povišene. Daljnja laboratorijska obrada kod sumnje na GD temelji se na mjerenju autoantitijela na TSH receptor: TRAB i tireotropin stimulirajuća antitijela (engl. *Thyroid-stimulating immunoglobulin*, TSI). Njihova stimulacija epitelnih stanica štitnjače dovodi do kliničkih znakova GD-a i pojave bolesti (10). TRAB mogu biti inhibirajuća i stimulirajuća antitijela. Njihovo vezanje uzrokuje različit odgovor hipofize i štitnjače. Autoantitijela koja vezuju TSHR dovode do stimulacije štitne žlijezde neovisno o normalnoj stimulaciji TSH-a. Ta autoantitijela TSHR poznata su kao dugotrajni tireoidni stimulatori ili imunoglobulini koji stimuliraju štitnjaču (TSI) (11). TSI su IgG antitijela i mogu prijeći placentarnu barijeru i uzrokovati neonatalnu tireotoksikozu.

2 **HIPOTEZA**

Hipoteza ovog istraživanja je da je TSI test bolji u dijagnosticiranju Gravesove bolesti od rutinski korištenog testa TRAB.

3 CILJEVI

Glavni cilj istraživanja:

Procjena dijagnostičke korisnosti TRAB i TSI testa u dijagnosticiranju pacijenata s Gravesovom bolesti.

Specifični ciljevi:

1. Određivanje osjetljivosti i specifičnosti TRAB testa u dijagnosticiranju Gravesove bolesti.
2. Određivanje osjetljivosti i specifičnosti TSI testa u dijagnosticiranju Gravesove bolesti.

4 ISPITANICI I METODE

4.1 Ustroj studije

Istraživanje je provedeno kao presječna (engl. *cross-sectional*) studija.

4.2 Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo 65 ispitanica ženskog spola koje su zaprimljene u Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja KBC-a Osijek zbog sumnje na Gravesovu bolest. Pacijentice su bili podvrgnute kliničkom pregledu, nakon čega im se u sklopu obrade uzorkovala krv u svrhu rutinske obrade. Istraživanje se provodilo tijekom sedam mjeseci: od 1. lipnja do 31. prosinca 2018. godine. Koncentracije TSH, FT4, FT3 i TRAB rutinski su se mjerile u sklopu obrade takvih pacijentica, a u ostatnim uzorcima naknadno su izmjerene koncentracije TSI-a. Iz istraživanja su isključeni pacijenti muškog spola te pacijenti koji su odbili sudjelovati u istraživanju. Ispitanice su podijeljene u dvije skupine: pacijentice s Gravesovom bolesti (N = 50) i kontrolne ispitanice (N = 15), tj. pacijentice s poremećajem funkcije štitnjače, ali bez Gravesove bolesti. Provođenje cjelokupnog istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Osijek.

4.3 Metode

Uzorci venske krvi dobiveni venepunkcijom u epruvete od 6 mL bez antikoagulansa BD CAT (Clot Activator Tube) (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) nakon 30-minutnog stajanja centrifugirani su 10 minuta na 3500 rpm. Tim postupkom odvojen je serum od stanica, u kojem su izmjerene koncentracije TSH, FT4, FT3 i TRAB. Nakon testiranja ostatni uzorci pohranjeni su u hladnjak na -20 °C u svrhu naknadnog mjerenja TSI-a. Koncentracije TSH, FT4 i FT3 izmjerene su mikročestičnom kemiluminiscentnom imunoanalizom (engl. *chemiluminiscent microparticle immunoassay*, CMIA) (Abbot Laboratories) na Architect i 2000_{SR} imunokemijskom analizatoru (Abbot Diagnostics, Lake Forest, USA). Koncentracije TRAB-a izmjerene su elektrokemiluminiscentnom imunoanalizom (engl. *electrochemiluminiscent immunoassay*, ECLIA) (Roche) na Cobas e 601 imunokemijskom analizatoru (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). TSI je analiziran kemiluminiscentnom imunoanalizom (engl. *chemiluminiscent immunoassay*, CLIA) na Immulite 2000 imunokemijskom analizatoru (Siemens) (Slika 1.).



Slika 1. Immulite 2000 imunokemijski analizator (Siemens), KBC Osijek

TSH

Određivanje koncentracije TSH započinje miješanjem uzorka s paramagnetskim česticama koje su obložene antitijelima na β lanac TSH (anti- β TSH) i tekućinom za razrjeđivanje (TSH Assay Diluent). TSH iz uzorka veže se na mikročestice obložene s anti-TSH-om. Nakon ispiranja dodaje se anti- α TSH konjugat koji je obilježen akridinom da bi se dobila reakcijska smjesa. Slijedi drugi stupanj i ponovno ispiranje nevezanog materijala. U dobivenu reakcijsku smjesu dodaje se predaktivacijska (*Pre-Trigger*) i aktivacijska (*Trigger*) otopina koje aktiviraju kemiluminiscentnu reakciju. Nastali svjetlosni produkt proporcionalan je koncentraciji ljudskog TSH-a u uzorku.

FT3

U prvom stupnju reakcije uzorak se miješa s paramagnetskim mikročesticama obloženima s anti-T3. Slobodan T3 iz uzorka veže se na mikročestice obložene s anti-T3. Slijedi ispiranje te se dodaje T3 konjugat obilježen akridinom. Na kraju se dodaju predaktivacijska (*Pre-Trigger*)

4 Ispitanici i metode

i aktivacijska (*Trigger*) otopina koje dovode do kemiluminiscencije. Svjetlosni produkt obrnuto je proporcionalan koncentraciji slobodnog T3 u uzorku.

FT4

U prvom stupnju reakcije uzorak se miješa s paramagnetskim česticama obloženim s anti-T4. Slobodan T4 iz uzorka se veže na mikročestice obložene s anti-T4. Nakon ispiranja dodaje se T3 konjugat obilježen akridinom, slijedi ispiranje i dodavanje predaktivacijske (*Pre-Trigger*) i aktivacijske (*Trigger*) otopine koje dovode do kemiluminiscentnog produkta koji je obrnuto proporcionalan koncentraciji slobodnog T4 u uzorku.

TRAB

Mjerenje TRAB antitijela (anti-TSHR) temeljilo se na heterogenoj imunoanalizi. Uzorak seruma u prvoj reakciji inkubiran je s topljivim svinjskim TSH receptorom (pTSHR) i biotiliranim antitijelima na svinjski TSH receptor. Stvaraju se imunološki kompleksi koji vežu TRAB antitijela (anti-TSHR) iz uzorka. Nakon prve inkubacije, dodaje se pufer koji omogućava daljnje odvijanje te reakcije. Na kraju se dodaju streptavidinom obložene mikročestice i humana TS monoklonalna antitijela (M22) obilježena rutenijem. Vezana anti-TSHR detektiraju se na temelju njihove sposobnosti da inhibiraju vezanje obilježenih M22. Cijeli se kompleks veže na čvrstu fazu posredstvom interakcije biotina i streptavidina. Na kraju se reakcijska smjesa aspirira u mjernu ćeliju, gdje se mikročestice djelovanjem magnetnog polja vežu na površinu elektrode, a nevezani spojevi uklanjaju se. Primjena voltaže na elektrodu inducira kemiluminescenciju koja se mjeri.

TSI

Test Immulite 2000 TSI koristi rekombinantne ljudske TSH receptore za specifično otkrivanje autoantitijela kod oboljelih od GD-a. U prvom ciklusu uzorak se inkubira s čvrstom fazom (polistirenskim kuglicama) tijekom 30 minuta. Nakon ispiranja, u drugom ciklusu rekombinantni TSH receptor koji je obilježen alkalnom fosfatazom inkubira se s uzorkom ponovno 30 minuta, pri čemu se TSI veže na receptor. Nevezani dio uklanja se ponovno ispiranjem. Konačno, kemiluminiscentni supstrat dodan je u reakcijsku posudicu, a nastali signal proporcionalan je koncentraciji TSI-a u uzorku.

4.4 Statističke metode

Rezultati su obrađeni statističkim testom MedCalc, verzija 12.4.0.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). Za prikaz podataka korištena je deskriptivna statistika. Kolmogorov-Smirnovljevim testom ispitana je raspodjela podataka. S obzirom na to da su podatci slijedili neparametrijsku raspodjelu, prikazani su kao medijani i interkvartilni rasponi. Razlika između grupa testirana je neparametrijskim testom (Mann-Whitneyjev U test). ROC analiza napravljena je za TRAB i TSI kako bismo utvrdili njihovu specifičnost i osjetljivost prilikom dijagnosticiranja Gravesove bolesti. Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) i negativna prediktivna vrijednost (NPV) izračunate su pomoću sljedećih formula:

$$PPV = \frac{\text{stvarno pozitivni}}{\text{stvarno pozitivni} + \text{lažno pozitivni}} (\%)$$

$$NPV = \frac{\text{stvarno negativni}}{\text{stvarno negativni} + \text{lažno negativni}} (\%)$$

$P < 0,05$ je predstavljala razinu značajnosti koja je korištena za ocjenu značajnosti dobivenih rezultata.

5 REZULTATI

Istraživanje je napravljeno na 65 ispitanica s medijanom dobi od 50 godina u rasponu od 20 do 79 godina, od kojih je 50 imalo Gravesovu bolest, dok ih je 15 imalo hipertireozu uz neke kliničke simptome koji su upućivali na Gravesovu bolest koja na kraju nije potvrđena. Te ispitanice sačinjavale su kontrolnu skupinu.

Demografski i klinički podatci ispitanika prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Demografski i klinički podatci ispitivanih skupina

	Ispitanice s Gravesovom bolesti Medijan (interkvartilni raspon)	Kontrolne ispitanice Medijan (interkvartilni raspon)	P-vrijednost*
Dob (medijan, raspon)	49 (20 – 74)	56 (33 – 79)	0,088
TSH (µg/L)	0,002 (0,002 – 0,006)	0,002 (0,002 – 0,179)	0,986
FT3 (U/L)	8,7 (7,6 – 14,1)	5,5 (4,4 – 7,8)	0,006
FT4 (U/L)	24,1 (20,0 – 29,7)	14,9 (13,3 – 22,7)	0,022

*Mann-Whitneyjev U test

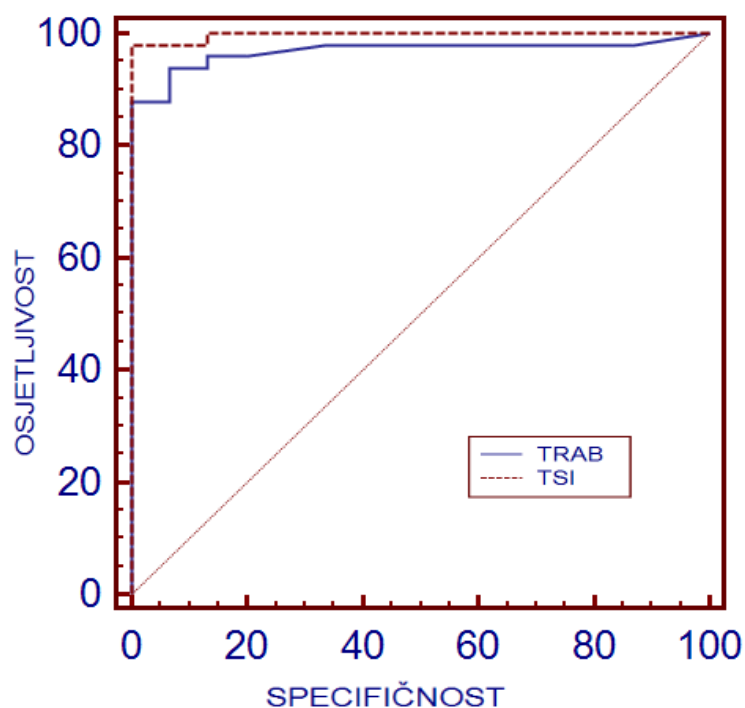
Sve ispitanice s Gravesovom bolesti imale su vrijednosti koncentracija TSI-a iznad granične vrijednosti koja je deklarirana od proizvođača reagensa (0,55 IU/L), a sve kontrolne ispitanice vrijednosti koncentracija TSI-a ispod te granične vrijednosti (Tablica 2.). Koncentracije TRAB-a bile su iznad granične vrijednosti deklarirane od proizvođača reagensa (1,75 IU/L) kod 45 ispitanica s Gravesovom bolesti i negativne kod 14 kontrolnih ispitanica (Tablica 2.).

Na temelju rezultata proizlazi da je pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) za TRAB iznosila 98 %, dok je negativna prediktivna vrijednost (NPV) bila 75 %. PPV i NPV za TSI bile su 100 %.

Usporedba ROC krivulja za ispitivane parametre prikazana je na Slici 2., a pripadajuće vrijednosti za specifičnost, osjetljivost i površinu ispod krivulje pri optimalnim graničnim vrijednostima u Tablici 3.

Tablica 2. Prikaz rezultata TSI-a i TRAB-a

Ispitanice s Gravesovom bolešću				Kontrolne ispitanice	
TRAB	TSI	TRAB	TSI	TRAB	TSI
3,2	1,86	3,4	2,05	0,5	< 0,10
3,5	2,52	4,8	2,30	0,4	< 0,10
7,6	4,33	1,5	2,06	0,5	< 0,10
3,4	1,62	2,5	1,62	0,5	< 0,10
11,6	8,24	5,8	2,61	0,7	< 0,10
6,8	4,20	3,8	0,19	1,2	0,403
5,8	2,57	14,7	7,14	< 0,3	< 0,10
3,3	0,94	5,5	2,84	0,6	< 0,10
13,2	6,52	5,5	3,17	0,3	< 0,10
3,5	1,84	11,0	6,37	0,6	< 0,10
5,5	2,09	15,8	8,69	0,3	< 0,10
5,7	4,76	11,7	6,09	0,7	< 0,10
1,3	1,04	2,1	0,80	1,9	0,291
1,1	0,56	8,5	1,02	< 0,3	< 0,10
0,7	1,12	24,8	27,40	0,9	< 0,10
3,3	0,58	> 40,0	> 40,0		
8,7	6,64	21,8	11,36		
1,4	0,81	28,0	14,50		
9,3	4,2	19,1	11,40		
3,7	2,23	29,6	13,00		
11,0	7,25	3,2	2,62		
<0,3	1,81	3,5	1,66		
10,6	3,83	12,5	5,83		
25,6	15,4	4,8	3,16		
6,3	4,56	11,5	6,58		



Slika 2. Usporedba ROC krivulja za TRAB i TSI

Tablica 3. Osjetljivost, specifičnost i površina ispod krivulje za ispitivana obilježja

	Osjetljivost	Specifičnost	Površina ispod krivulje	Granična vrijednost	P-vrijednost
TRAB ($\mu\text{g/L}$)	88	100	0,969	1,90	< 0,001
TSI (U/L)	98	100	0,997	0,40	0,046

6 RASPRAVA

Ovim istraživanjem analizirano je 65 ispitanica prosječne dobi 50 godina kod kojih je na temelju kliničkih simptoma postavljena sumnja na Gravesovu bolest. Gravesova bolest autoimuni je poremećaj koji nastaje stvaranjem At-a koja se vežu i aktiviraju TSH receptor. Tako uzrokuju prekomjerno oslobađanje hormona štitnjače i kliničku sliku hipertireoze. Ta se bolest javlja uglavnom u ženskoj populaciji. Uz kliničku sliku hipertireoze obično se javlja i karakteristični klinički trijas. Međutim, u nekih pacijenata klinička slika nejasna je. Laboratorijska dijagnostika ima važno mjesto u dijagnosticiranju te bolesti, a dosadašnjom praksom uglavnom se temeljila na prisustvu At-a na TSH receptor. Nedavno su se pojavili testovi koji bi trebali dati pouzdaniji rezultat u klasifikaciji Gravesove bolesti, a temelje se na mjerenju TSI-a. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je TSI izvrstan biljeg koji omogućava jednostavno i pouzdano dijagnosticiranje te bolesti, bolje nego uobičajeno korišteni TRAB.

Iz rezultata je vidljivo da su sve ispitanice s GD-om imale koncentracije TSI-a iznad granične vrijednosti (0,55 IU/L), dok su vrijednosti koncentracija TSI-a u kontrolnih ispitanica bile ispod te granične vrijednosti. Dakle, svi nalazi TSI-a bili su sukladni s konačnom dijagnozom, dok su nalazi TRAB-a bili lažno negativni kod pet pacijentica i lažno pozitivni kod jedne. Naši su rezultati u skladu s rezultatima drugih istraživanja. Istraživanje Tavaresa i sur. na malom broju ispitanica pokazalo je da su sve ispitanice s Gravesovom bolesti (N = 10) imale pozitivan TSI (osjetljivost 100 %), dok su sve zdrave ispitanice imale negativan rezultat (12). Prilikom svog istraživanja koristili su isti test (Immulite 2000 TSI, Siemens), koji su opisali jednostavnim za provođenje, a istovremeno visoko osjetljivim i specifičnim u dijagnostici Gravesove bolesti (12). S druge strane, u drugoj studiji TSI antitijela otkrivena su u 150 od 155 pacijentica s Gravesovom bolesti (osjetljivost 97 %) i u 148 od 155 pacijentica s Gravesovom oftalmozom (13). Autori su zaključili da je TSI funkcionalni pokazatelj aktivnosti i ozbiljnosti i kod Gravesove bolesti i kod Gravesove oftalmopatije (13). Leschik i sur. usporedili su analitičku učinkovitost i kliničku korisnost TSI testa s TRAB-om te su zaključili da se uporabom TSI testa mogu uočiti niže razine anti-TSHR autoantitijela nego korištenjem TRAB-a, te da pokazuje bolju preciznost u dijagnostici Gravesove bolesti (14). Kako je razlikovanje Gravesove bolesti od drugih oblika hipertireoze bitno za pravilno liječenje oboljelih, posebno kada se radi o autoimunom procesu u organizmu, smatraju da bi

mjerenje TSI-a bilo iznimno korisno (14). Nadalje, otkrili su da veće koncentracije TSI-a iz neonatalnog i majčinog seruma predviđaju veći rizik za transplacentarni prijenos autoantitijela i Gravesovu bolest kod novorođenčadi.

Nedavno su Villalta i sur. u svom istraživanju također usporedili TRAB s novim biljgom TSI-a. ROC analizom dobiveni su rezultati osjetljivosti i specifičnosti koji su za TRAB iznosili 94,7 % i 99,6 %, dok su za TSI bili 98,2 % i 100 % (15). Nažalost, negativni rezultati TRAB-a ne mogu isključiti Gravesovu bolest, nego samo rezultirati pogrešnom dijagnozom, što dovodi do lošije prognoze i ishoda liječenja. Ključno je napomenuti da Gravesova bolest ima štetne učinke na kvalitetu života, osim psihofizičke nesposobnosti za rad, povezana je i s povećanim rizikom od smrti (16). Zbog toga bi bilo s kliničkog ili laboratorijskog aspekta iznimno važno koristiti što kvalitetniji biljeg ili antitijelo za točnu dijagnozu, posebice kada se radi o autoimunim bolestima.

Mnogi autori smatraju da uporaba TSI antitijela može imati veću dijagnostičku i kliničku vrijednost za dijagnosticiranje autoimune Gravesove bolesti, te da bi se TSI test trebao smatrati testom prvog reda (17). Isti je stav Udruge kliničkih endokrinologa i stručnjaka Američkog udruženja štitnjače (18). Dijagnostički algoritmi koji se koriste u trenutnoj praksi i hipotetski algoritmi koji uključuju TSI identificirani su korištenjem objavljenih kliničkih smjernica i intervju s brojnim endokrinolozima (13).

Poznato je da se u Gravesovoj bolesti TSI vežu na TSH receptor i oponašaju TSH, stimulirajući tako štitnu žlijezdu. Budući da ta sekrecija nije pod kontrolom negativne povratne sprege, stimulacija dovodi do nastanka hipertireoze, odnosno Gravesove bolesti. Nasuprot tome, vezanje tireoidnih blokirajućih antitijela (TBI) na TSH receptor inhibira TSH stimulaciju dovodeći do hipotireoze. TRAB test ne razlikuje TSI od TBI-a, što je razlogom manje osjetljivosti i specifičnosti tog testa u odnosu na TSI.

Uzevši u obzir važnost pravovremenog dijagnosticiranja Gravesove bolesti te rezultate našeg i prethodnih sličnih istraživanja, može se zaključiti da bi primjena TSI biljega u dijagnozi i isključivanju te bolesti imala svoje važno mjesto. Uključivanje TSI-a u postojeće dijagnostičke algoritme osiguralo bi pravovremenu i pouzdanu dijagnozu uz smanjenje ekonomskih troškova uzrokovanih odgađanjem dijagnoze, krivim terapijskim pristupom i dodatnim dijagnostičkim postupcima.

7 ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- TRAB i TSI testovi su koji su jednostavni za izvedbu i omogućavaju brzo dobivanje nalaza.
- Iako je TRAB vrlo koristan biljeg u algoritmu dijagnosticiranja poremećaja funkcije štitnjače, nije dovoljno pouzdan te može dovesti do odgađanja postavljanja dijagnoze.
- TSI je visoko osjetljiv i specifičan test za dijagnozu Gravesove bolesti koji je pokazao veću dijagnostičku pouzdanost u odnosu na TRAB.

8 SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA. Cilj istraživanja bio je usporediti dijagnostički značaj TRAB i TSI testa u dijagnosticiranju pacijenata s Gravesovom bolesti.

USTROJ STUDIJE. Studija je ustrojena kao presječno istraživanje.

ISPITANICI I METODE. U istraživanje je bilo uključeno 65 pacijentica prosječne dobi 50 godina koje su zaprimljene u Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja s kliničkom slikom Gravesove bolesti. Pacijentice su bile podijeljene u dvije skupine: I) pacijentice s Gravesovom bolesti (N = 50) i II) kontrolne ispitanice (N = 15). Koncentracije TSH, FT4 i FT3 izmjerene su mikročestičnom kemiluminiscentnom imunoanalizom (CMIA) na Architect i1000SR analizatoru (Abbott Laboratories, Lake Forest, SAD), koncentracije TRAB-a elektrokemiluminiscentnom imunoanalizom (ECLIA) na Cobas e601 analizatoru (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka), a TSI kemiluminiscentnom imunoanalizom (CLIA) na Immulite 2000 XPi analizatoru (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, Flanders, USA). Rezultati su obrađeni statističkim testom MedCalc, verzija 12.4.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

REZULTATI. Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) i negativna prediktivna vrijednost (NPV) za TSI iznosile su 100 %, dok je PPV za TRAB bila 98 %, a NPV 75 %. ROC analizom dobivena je bolja specifičnost i osjetljivost za TSI (površina ispod krivulje 0,997) u odnosu na TRAB (površina ispod krivulje 0,967).

ZAKLJUČAK. Rezultati istraživanja pokazali su da je TSI test pouzdaniji za dijagnosticiranje Gravesove bolesti u odnosu na rutinski korišteni TRAB.

KLJUČNE RIJEČI: Gravesova bolest; TRAB; TSI

9 SUMMARY

OBJECTIVES. The aim of this study was to compare the diagnostic significance of TRAB and TSI tests in diagnosing patients with Graves' disease.

STUDY DESIGN. Cross-sectional study.

PARTICIPANTS AND METHODS. The study included 65 patients of the average age of 50, who were admitted to the Clinical Institute for Nuclear Medicine and Radiation Protection suspected of suffering from Graves' disease. Patients were divided into two groups: I) Graves' disease patients (N=50) and II) control subjects (N=15). Concentrations of TSH, FT4 and FT3 were measured by chemiluminiscent microparticle immunoassay (CMIA) on the Architect i1000SR analyzer (Abbott Laboratories, Lake Forest, USA), the TRAB concentration by electrochemiluminiscent immunoassay (ECLIA) on the Cobas e601 analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), TSI was measured by chemiluminescence immunoassay (CLIA) on Immulite 2000 XPi analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Flanders, USA). The results were analyzed in MedCalc, version 12.4.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

RESULTS. Positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) for TSI were 100%, while PPV for TRAB was 98% and NPV 75%. ROC analysis yielded better specificity and sensitivity for TSI (area under the curve 0.997) compared to TRAB (area under the curve 0.967).

CONCLUSION. The results of the study indicated that the TSI test was more reliable for diagnosing Graves' disease than TRAB, which is routinely used.

KEY WORDS: Graves' disease; TRAB; TSI

10 LITERATURA

1. Bukovec Megla Ž, Posavec Lj. Bolesti štitnjače – racionalna dijagnostika: Medicinska naklada Zagreb;2010.
2. Halbauer M, Šarčević B, Tomić Brzac H. Citološko – patološki atlas bolesti štitne žlijezde i doštitnih žlijezda s ultrazvučnim slikama:Nakladni zavod Globus;2001.
3. Paunković N, Paunković J. The diagnostic criteria of Graves disease and especially the thyrotropin receptor antibody; our own experience. Hell J Nucl Med. 2007;10(2):89-94.
4. Shivaraj G, Desai Prakash B, Sonal V, Shruthi K, Vinayak H, Avinash M. Thyroid function tests: s review. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2009;13:341-349.
5. G. Barbesino, Y. Tomer. Clinical Utility of TSH Receptor Antibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(6):2247-2255.
6. Illouz F, Rodien P. Graves disease. Rev Prat. 2014 Jun;64(6):828-34.
7. Smith TJ, Hegedus L. Graves disease. N Engl J Med. 2016;1552-1565.
8. Subekti I, Pramono LA. Current Diagnosis and Management of Graves' Disease. Acta Med Indones. 2018 Apr;50(2):177-18.
9. Kotwal A, Stan M. Current and Future Treatments for Graves' Disease and Graves' Ophthalmopathy. Horm Metab Res. 2018 Dec;50(12):871-886.
10. Prasek K, Plazinska MT, Krolicki L. Diagnosis and treatment of Graves disease with particular emphasis on appropriate techniques in nuclear medicine. General state of knowledge. Nucl. Med. Rev 2015;18(2):110-116.
11. Goichot B, Leenhardt L, Massart C, Raverot V, Tramalloni J, Iraqi H; Consensus work-group. Diagnostic procedure in suspected Graves' disease. Ann Endocrinol (Paris). 2018 Dec;79(6):608-617.

12. Tavares P, Machado C, Pedroso J. C, Vieira J, Rocha G, Monteiro S, Sousa A. M, Rodrigues P, Lira A, Oliveira M. J. TSH receptor stimulating immunoglobulins - performance of an automated immunoassay. *Endocrine Abstracts* 2017;49.
13. Lytton S. D, Ponto K. A, Kanitz M, Matheis N, Kohn L. D, Kahaly G. J. A novel thyroid stimulating immunoglobulin bioassay is a functional indicator of activity and severity of Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 May;95(5):2123-31.
14. Ohara N, Kaneko M, Kitazawa M, Uemura Y, Minagawa S, Miyakoshi M, Kaneko K, Kamoi K. Persistent Graves' hyperthyroidism despite rapid negative conversion of thyroid-stimulating hormone-binding inhibitory immunoglobulin assay results: a case report. *J Med Case Rep.* 2017 Feb 6;11(1):32.
15. Villalta D, D'Aurizio F, Da Re M, Ricci D, Latrofa F, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of a new fluoroenzyme immunoassay for the detection of TSH receptor autoantibodies in Graves' disease. *Autoimmunity Highlights.* 2018;9:3.
16. Kahaly G. J, Bartalena L, Hegedüs L, Leenhardt L, Poppe K, Pearce S.H. 2018 European Thyroid Association Guideline for the Management of Graves' Hyperthyroidism. *Eur Thyroid J* 2018;7:167–186.
17. Autilio C, Morelli R, Locantore P, Pontecorvi A, Zuppi C, Carrozza C. Stimulating TSH receptor autoantibodies immunoassay: analytical evaluation and clinical performance in Graves disease. *Journals.* 2017;1:172-177.
18. Leger J, Oliver I, Rodrique D, Lambert AS, Coutant R. Graves disease in children. *Ann Endocrinol (Paris).* 2018 Dec;79(6):647-655.

11 ŽIVOTOPIS

OSOBNİ PODATCI:

Ime i prezime: Ivana Bardak

Datum i mjesto rođenja: 14. 4. 1991., Slavonski Brod

Adresa: Nikole Zrinskog 58, Slavonski Brod

Telefon: 095 377 5642

E-mail: ivana.bardak@gmail.com

Studentica 2. godine sveučilišnog diplomskog studija

PODATCI O STUDIJU:

Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek

Adresa fakulteta: Ulica cara Hadrijana 10E, 31 000 Osijek

Telefon: 031 399 625

PODATCI O ŠKOLOVANJU:

2016 – 2019: Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

2012 – 2015: Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

2006 – 2010: Srednja medicinska škola Slavonski Brod, smjer: medicinska sestra/tehničar

1998 – 2006: Osnovna škola „BLAŽ TADIJANOVIĆ“ Slavonski Brod