

ANTICORPOS ANTI-RECEPTOR DA TSH NA DOENÇA DE GRAVES

MARILIA RHODES SÉRGIO, CONCEIÇÃO GODINHO, LAURA GUERRA, ANA AGAPITO, FERNANDO FONSECA, CHARNECO COSTA

Laboratório Endocrinologia - Serviço Patologia Clínica, Unidade Endocrinologia do Hospital Curry Cabral - Lisboa.

RESUMO

Neste trabalho os AA avaliam a sensibilidade, especificidade e valor predictivo do doseamento dos anticorpos anti-receptor da TSH (TRAb) no diagnóstico da doença de Graves. A população estudada incluiu 80 doentes com doença de Graves recentemente diagnosticada e sem tratamento prévio (grupo I), 63 doentes com outras patologias tiroideias (grupo II) e 60 indivíduos sem patologia tiroideia (grupo III). Utilizaram uma técnica de radioreceptor, o kit TRAK Henning, que considera positividade > 14 U TRAb/L, negatividade < 9 e zona cinzenta entre estes 2 valores. No grupo I, 11 doentes tinham TRAb negativo e 7 situavam-se na zona cinzenta. No grupo II apenas 2 doentes tinham TRAb de 9 e todos os indivíduos do grupo controlo tinham TRAb negativo. Para efeito estatístico foram excluídos os doentes com valores na zona cinzenta. Os valores de sensibilidade e especificidade para o método ensaiado foram respectivamente de 84,5% e 100%. O valor predictivo foi de 100%, o que permite afirmar com segurança que um doente com hipertiroidismo e TRAb positivo tem doença de Graves.

SUMMARY

Thyrotropin Receptor Antibody in the Diagnosis of Graves Disease

The purpose of this study was to evaluate the sensitivity, specificity and predictive value of thyrotropin receptor antibody (TRAb) in the diagnosis of Graves disease. TRAb was tested by an isotopic receptor assay - TRAK Henning - in 80 newly diagnosed, untreated Graves' disease patients (group I), 63 with other thyroid diseases (group II) and 60 controls (group III). In group I, 11 patients were TRAb negative and 7 were considered in the gray area (TRAb between 9 and 14 U/L). In group II, only 2 patients had TRAb 9 U/l and all controls were TRAb negative. For statistical analysis patients with TRAb in gray area were excluded. Sensitivity and specificity for this assay were 84,5 and 100% respectively. Predictive value of 100% affords certainty that a hyperthyroid patient with a positive TRAb has Graves' disease, not sequencing a scintigram.

INTRODUÇÃO

O receptor da TSH, a peroxidase e a tireoglobulina, constituem os principais antígenos específicos da tiroideia.¹⁻³

Na doença de Graves o receptor da TSH é o antígeno mais directamente envolvido na etiopatogenia.^{1,2,4-6}

Os anticorpos dirigidos contra o receptor da TSH (TRAb), formam uma população heterogénea. Na sua maioria têm acção estimulante da síntese e secreção das hormonas tiroideias, mas existem também anticorpos responsáveis pelo crescimento celular, e outros com acção bloqueante.⁷⁻¹¹

Várias técnicas foram desenvolvidas ao longo dos anos

para detecção destes anticorpos anti-receptor, o que tem condicionado terminologias diferentes.^{4,12-15}

Os 2 métodos mais frequentemente utilizados são:

- técnicas de bioensaio, que determinam a actividade biológica destes anticorpos, estimulante ou bloqueante, através da medição do AMP cíclico produzido em culturas celulares.^{13,14,16}
- técnicas de radioreceptor, que avaliam a presença de anticorpos que competem com a TSH marcada para receptores da TSH purificados e solubilizados.¹⁷

Este último método, de fácil execução, não permite contudo discriminar a sua actividade biológica, estimulante ou bloqueante.

No presente estudo avaliamos a sensibilidade, especificidade e valor predictivo do doseamento do TRAb no diagnóstico da doença de Graves.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram seleccionados 3 grupos de doentes, observados pelos autores de 1990 a 1994.

Grupo I – 80 doentes com doença de Graves, sem terapêutica prévia. Os critérios de diagnóstico incluíram quadro clínico sugestivo, T3 e T4 elevadas com TSH suprimida, anticorpos anti-tireoglobulina e anti-peroxidase positivos e gamagrafia tiroideia com fixação difusa do radionuclídeo Tecnécium 99m.

Grupo II – 63 doentes com outras patologias tiroideias, que incluem 22 tiroidites de Hashimoto, 12 bóciós multinodulares tóxicos, 10 bóciós multinodulares simples, 8 nódulos da tiroideia, 6 bóciós difusos simples, 3 adenomas tóxicos, 1 tiroidite de De Quervain e 1 hipotiroidismo primário idiopático.

Grupo III – 60 indivíduos sem patologia tiroideia, grupo controle.

A determinação do TRAb foi efectuada nos 3 grupos, utilizando um kit comercial, Trak Henning. O método utilizado é baseado na competição entre anticorpos presentes no soro dos doentes e a TSH bovina marcada com Iodo 125, para locais biologicamente activos do receptor.

Os receptores da TSH são preparados por solubilização detergente de membranas tiroideias de porco. Os padrões do kit são calibrados contra MRC standard B65/122, e a utilização destes permite a conversão dos resultados obtidos em cpm para valores de unidade TRAb/litro. Possui 2 níveis de controle de soro humano.

É uma técnica que apresenta um coeficiente de dificuldade moderado na sua execução, utiliza um pequeno volume de amostra, e não implica cuidados especiais de colheita nem de manuseamento.

Pipeta-se para tubos de RIA em duplicado:

- 1 – 50 ul de standard (0 - 5), 50 ul de controles e 50 ul de amostra.
- 2 – 50 ul de receptor TSH
- 3 – incuba 15 minutos à temperatura ambiente
- 4 – 100 ul de TSH marcada
- 5 – incuba 2 horas à temperatura ambiente
- 6 – junta 2 ml de solução PEG a 4 °C
- 7 – centrifuga 20 minutos a 2000 G
- 8 – decanta e lê no contador Gama.

O kit referencia negatividade abaixo de 9, positividade acima de 14 e zona cinzenta de 9 a 14.

Utilizámos para o estudo de precisão os 2 níveis de controle que acompanham o kit. O controle 1 com média de 23 ± 7 U TRAb/L e o controle 2 de 66 ± 12 . Obteve-se respectivamente um coeficiente de variação intra-ensaio de 4,6 e 4,8% e inter-ensaio de 10,1 e 7,9%

RESULTADOS

A Fig. 1 mostra a dispersão dos valores do TRAb nos 3 grupos estudados. Verifica-se que dos 80 doentes com doença de Graves apenas 11 (13,7%) apresentam valores

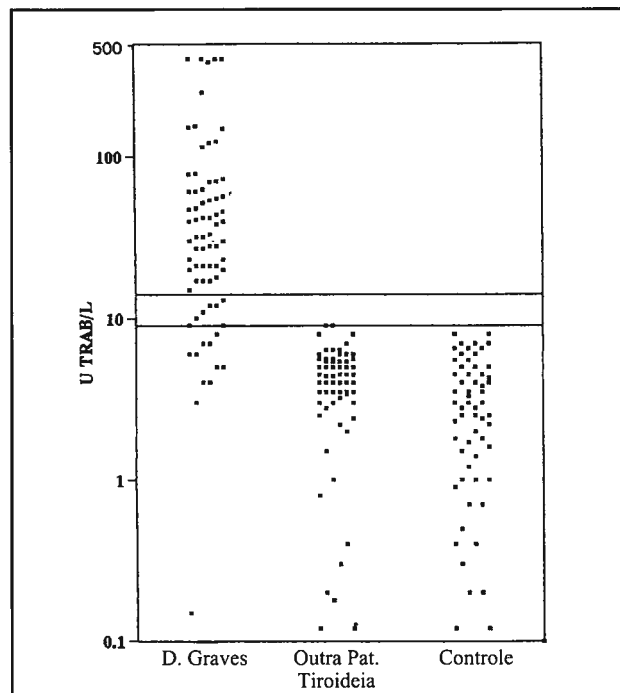


Fig. 1 – Distribuição do TRAb na população estudada. As linhas horizontais delimitam a zona cinzenta ($9 \leq \text{TRAb} \leq 14$).

inferiores a 9 U TRAb/L e 7 se situam na zona cinzenta (9 a 14). Os 60 doentes que constituem o grupo controle apresentam TRAb inferior a 9 (média $3,0 \pm 2,1$). No grupo com outras patologias tiroideias, apenas 2 apresentam valor de 9 (média $4,1 \pm 2,0$).

Atendendo que o kit refere positividade acima de 14, negatividade abaixo de 9 e que entre estes 2 valores se considera zona cinzenta, para efeito estatístico foram excluídos os doentes que caíam neste intervalo.

Assim, na doença de Graves excluíram-se 7 doentes, e no grupo II não incluímos 2 doentes.

O quadro 1 representa a população estudada, que foi dividida pelos critérios de diagnóstico como tendo ou não doença de Graves e pelo valor positivo ou negativo do TRAb. A partir destes dados determinou-se a sensibilidade, especificidade e valor predictivo do método.

Quadro 1 – Distribuição da população estudada segundo os critérios de presença ou ausência de doença da Graves e TRAb positivo ou negativo. A sensibilidade e especificidade do TRAb foram respectivamente 84,5 e 100% e o valor predictivo 100%.

	Com D. Graves	Sem D. Graves	n
TRAb posit.	62	0	62
TRAb negat.	11	121	132
n	73	121	194

A sensibilidade, percentagem de indivíduos com doença de Graves e valor de TRAb positivo, foi de 84,5%.

A especificidade, percentagem de indivíduos sem doença de Graves e com TRAb negativo foi de 100%.

O valor predictivo encontrado foi de 100%, definido pela razão entre o número de doentes com doença de Graves e TRAb positivo, e o total da população estudada com TRAb positivo.

DISCUSSÃO

A tríade clássica de bócio, exoftalmia, e dermopatia não está presente na maioria dos casos de doença de Graves. Nestas circunstâncias o diagnóstico diferencial da tireotoxicose não pode ser baseado exclusivamente em critérios clínicos.¹⁸ O recurso à gamagrafia que permite diferenciar as principais causas de tireotoxicose mediante o padrão de fixação difuso, heterogêneo ou ausente, embora útil só é exequível nos grandes centros e não fornece informação etiopatogénica.¹²

No presente trabalho determinamos o valor diagnóstico do TRAb na doença de Graves. A sensibilidade do método, de 83,3%, está de acordo com a referida por outros autores.^{19,20,21} Não encontramos contudo correlação entre o valor do TRAb e a presença de exoftalmia.¹⁹

Várias hipóteses explicativas têm sido apontadas para a negatividade do TRAb na doença de Graves: insuficiente sensibilidade do kit, precocidade da determinação do TRAb na evolução da doença, ou sequestração intra-tiroideia de anticorpos, não detectáveis no ensaio.²²

A entidade descrita por alguns autores como tireotoxicose difusa autónoma, de carácter não auto-imune, que do ponto de vista clínico e cintigráfico se apresenta como doença de Graves sem exoftalmia nem dermopatia, pode também ser causa de falsos negativos na determinação do TRAb.¹⁹

Na nossa série, dos 11 doentes com doença de Graves e TRAb negativo à data do diagnóstico, 5 vieram a positivar no decurso da doença.

Todos os autores são concordantes em afirmar especificidade do TRAb superior a 90%.²³ No nosso estudo o grupo de indivíduos controle apresentou valores de TRAb sempre negativos. No grupo II (outras patologias tiroideias) apenas 2 doentes com bócio multinodular tóxico tinham TRAb de 9 U/L, sendo de salientar que todos os casos de tiroidite de Hashimoto eram TRAb negativo. Estes resultados dão-nos 100% de especificidade do teste.

O valor predictivo de 100%, permite-nos afirmar que um doente com hipertiroidismo e TRAb positivo tem seguramente doença de Graves, permitindo-nos dispensar a realização do exame cintigráfico.

BIBLIOGRAFIA

1. VOLPÉ R: Aspects immunologiques des maladies auto-immunes de la thyroïde. *Ann Endoc (Paris)*, 1981; 42(3):169-194
2. VOLPÉ R: Autoimmune Endocrinopathies: Aspects of pathogenesis and the role of immune assays in investigation and management. *Clin Chem* 1994; 40:2132-2145
3. RAPOPORT B: Thyroid specific antigens in Basedow's disease. *Exp Clin Endocrinol* 1991; 97:147-152
4. SMITH BR, MCLACHLAN SM, FURMANIAK J: Autoantibodies

- to the thyrotropin receptor. *Endocrine Rev.* 1988; 9:106-118
5. NAGAYAMA Y, RAPOPORT B: Thyroid stimulatory autoantibodies in different patients with autoimmune thyroid disease do not all recognize the same components of the human thyrotropin receptor: selective role of receptor amino acids ser25-glu30. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:1425-1430
6. AKAMIZU T, SAJI M, IKUYAMA S, KOSUGI S, TAHARA K, KOHN L: The TSH receptor in autoimmune Basedow's disease. *Exp Clin Endocrinol* 1991; 97:153-159
7. KASAGI K, HIDAKA A, NAKAMURA H, TAKEUCHI R, MISAKI T, HDA Y, KONISHI J: Thyrotropin receptor antibodies in hypothyroid Graves Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76:504-508
8. KOSUGI S, BAN T, AKAMIZU T, VALENTE W, HOHN L: Use of thyrotropin receptor (TSHR) mutants to detect stimulating TSHR antibodies in hypothyroid patients with idiopathic myxedema, who have blocking TSHR antibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77:19-24
9. BAKER JR, Editorial: Dissecting the immune response to the thyrotropin receptor in autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77:16-18
10. CHO BY, SHONG YK, LEE HK, KOH CS, MIN HK: Graves hyperthyroidism following primary hypothyroidism: sequential changes in various activities of thyrotropin receptor antibodies. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1989; 120:447-450
11. TAMAI H, KASAGI K, TAKAICHI Y, TAKAMATSU J, KOMAKI G, MATSUBAYASHI S, KONISHI J, KUMA K, KUMAGAI LF, NAGATAKI S: Development of spontaneous hypothyroidism in patients with Graves disease treated with antithyroidal drugs: Clinical, immunological, and histological findings in 26 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 69:49-53
12. LARSEN PR, INGBAR SH: the thyroid gland. In: Wilson JD, Foster DW eds. *Williams Textbook of Endocrinology*, WB Saunders Company - 8th Edition 1992; 419-437
13. COSTAGLIOLA S, SWILLENS S, NICOLLI P, DUMONT JE, VASSART G, LUDGATE M: Binding assay for thyrotropin receptor antibodies using the recombinant receptor protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 75:1540-1544
14. VITTI P, TONACCHERA M, CHIOVATO L, MANCUSI F, RAGO T, MAMMOLI C, LUDGATE M, VASSART G, PINCHERA A: Detection of thyroid-stimulating antibody using chinese hamster ovary cells transfected with cloned human thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76:499-503
15. LARSEN PR, ALEXANDER NM, CHOPRA IJ et al: Revised nomenclature for tests of thyroid hormones and thyroid related proteins in serum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 64:1089-1092
16. BECH K, NISTRUP SN: Thyroid adenylate cyclase stimulating immunoglobulins in thyroid diseases. *Clin Endocrinol* 1979; 11:47-58
17. BORGES M, INGBAR JC, ENDO K et al. A new method for assessing the thyrotropin binding inhibitory activity in the immunoglobulins and whole serum of patients with Graves disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982; 54:552-558
18. SCHICHA H: Differential diagnosis of hyperthyroidism. *Exp Clin Endocrinol.* 1991; 97(2/3):217-223
19. GRULET H, GIBOLD C, LABRE H, DELISLE MJ, DELTOUR G: Le dosage des anticorps de la TSH est-il un apport utile dans la choix et la conduite du traitement de la maladie de Basedow? *Rev Franç Endocrinol Clin.* 1990, 31:539-546
20. ZAKARIJA M, MCKENZIE JM, BANOVAK K: Clinical significance of assay of thyroid-stimulating antibody in Graves disease. *Ann Intern Med* 1980; 93:28-32
21. VIDAL E, ANTOINE E, NADALON S, CEVALLOS R, BOURNOUD E, VANDROUX JC, BORDESSOULE D, LOUSTAUD V, WEINBRECK P, LIOZON F: Les anticorps anti-recepteurs de la TSH dans une série de maladie de Basedow. *Ann Med Int* 1988; 139: 331-335
22. KAWAI K, TAMAI H, MORI T, MORITA T, MATSUBAYASHI S, KATAYAMA S, KUMA K, KUMAGAI LF: Thyroid histology of hyperthyroid Graves disease with undetectable thyrotropin receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:716-719
23. MANN K, SALLER B, HORMANN R: Clinical relevance of immunological markers in Graves disease. *Exp Clin Endocrinol* 1991; 97(2/3): 224-230