

A makro-TSH diagnosztikus és terápiás jelentősége Hashimoto-thyreoiditises betegekben

Balázs Csaba dr.¹ ■ †Rácz Károly dr.²

¹Budai Endokrin Központ, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. Belgyógyászati Klinika, Budapest

Bevezetés: A makro-TSH szerkezete, incidenciája és klinikai szerepe pajzsmirigybetegekben nem tisztázott.

Célkitűzés: A makro-TSH előfordulási gyakoriságának, tulajdonságainak meghatározása Hashimoto-thyreoiditises betegek savójában.

Módszer: A Hashimoto-thyreoiditises betegek vérmintáiban a makro-TSH-t meghatározták polietilén-glikol precipitációs módszerrel és protein G agaróz abszorpció, illetve gélfiltrációs kromatográfiával. A makro-TSH biológiai aktivitását TSH-receptorral transzfektált CHO bioassay módszerével mérték. A betegek L-tiroxin-kezelésben részesültek (átlagosan 66,5 µg/nap), a betegek fele pedig szelént is kapott (átlagosan 60 µg/nap).

Eredmények: 880 Hashimoto-thyreoiditises beteget (728 nő, átlagéletkor 44,8 év) vontak be a vizsgálatba. A makro-TSH-t 41 betegben (4,6%) mutatták ki, az átlagos TSH-szint a PEG-precipitáció előtt 185,4 ± 35 IU/l volt, a precipitáció után pedig 5,55 ± 1,8 IU/l. Az anti-TPO-szint 445 ± 51 IU/l volt és fokozatosan csökkent 212 ± 51 IU/l-re egyéves tiroxin- és szelénkezelés után. Mind a PEG-precipitációs, mind a protein G abszorpció módszerrel, illetve gélkromatográfiai eljárással a TSH elleni antitest jelenlétét mutatták ki a makro-TSH-immunkomplexben. A makro-TSH biológialag inaktívnak bizonyult, mivel a CHO-sejteket nem stimulálta. A makro-TSH a szelénrel nem kezelt csoportban 18 ± 3,2 hónapig, a szelénrel kezeltben 12 ± 1,9 hónapig volt kimutatható.

Következtetés: A TSH elleni antitestek fő komponensei a makro-TSH-nak és diagnosztikus, illetve terápiás nehézségeket okozhatnak. A PEG-precipitációs eljárás alkalmas szűrőmódszer a makro-TSH bizonyítására. A szelén képes nemcsak az anti-TPO-, hanem a makro-TSH-szint csökkentésére egyaránt. Amikor a TSH-szint 40,0 IU/l feletti a hypothyreosis jelei nélkül, gondolnunk kell a makro-TSH jelenlétére.

Orv Hetil. 2017; 158(34): 1346–1350.

Kulcsszavak: TSH, makro-TSH, Hashimoto-thyreoiditis, anti-TPO, hypothyreosis

Diagnostic and therapeutical significance of macro-TSH in patients with Hashimoto's thyroiditis

Introduction: Structure, importance and incidence and clinical role of macro-TSH not clarified in thyroid diseases.

Aim: This study was undertaken to determine the incidence and biological role of macro-TSH in patients with Hashimoto's thyroiditis.

Method: Blood samples taken from patients with Hashimoto's thyroiditis were screened for the presence of macro-TSH with the polyethylene glycol method and confirmed with protein G agarose absorption test and gel filtration chromatography. Stimulatory capacity of macro-TSH was measured by CHO cells bio-assay. Patients were treated with L-thyroxine (mean 66.5 µg/day) and half of them with selenium (mean 60 µg/day), respectively.

Results: 880 patients (728 female, aged 44.8 yr) with Hashimoto's thyroiditis was involved in the study. Macro-TSH was found in the serum of 41 patients (4.6%), the mean TSH 185.4 ± 35 IU/l was before PEG precipitations and after 5.55 ± 1.8 IU/l. Titre of anti-TPO proved to be 445 ± 51 IU/l and gradually decreased to 212 ± 51 IU/l after one year therapy. Both the precipitation, protein G absorption and gel chromatography supported the presence of anti-TSH antibody in the macro-TSH complex. Stimulatory capacity of macro-TSH on CHO bio-assay was not proved. The macro-TSH was detected in the selenium not treated group for 18 ± 3.2 months, selenium-treated for 12 ± 1.9 months.

Conclusion: It is concluded that anti-human TSH autoantibodies are a major components of macro-TSH and may cause diagnostic and therapeutical difficulties. The PEG precipitation is a suitable screening method for detection of macro-TSH. Selenium is able to decrease of anti-TPO antibodies and macro-TSH, respectively. When the TSH level is greater than 40.0 IU/l, without the signs of hypothyroidism, the presence of macro-TSH is to be considered.

Keywords: TSH, macro-TSH, Hashimoto's thyroiditis, anti-TPO antibodies, hypothyroidism

Balázs Cs, †Rácz K. [Diagnostic and therapeutical significance of macro-TSH in patients with Hashimoto's thyroiditis]. *Orv Hetil.* 2017; 158(34): 1346–1350.

(Beérkezett: 2017. június 22.; elfogadva: 2017. július 13.)

Rövidítések

anti-TPO = pajzsmirigy-peroxidáz elleni antitest; cAMP = ciklikus adenozin monofoszfát; CHO = Chinese hamster ovary cells; fT3 = szabad trijód-tironin; fT4 = szabad tiroxin; hCG = humán koriogonadotropin-hormon; PEG = polietilén-glikol; T2 = dijódtironin; T3 = trijódtironin; T4 = tiroxin; TG = tireoglobulin; TSH = tireotropstimuláló hormon; TSH-R elleni antitest = TSH-receptor elleni antitest; TPO = pajzsmirigy-peroxidáz enzim

A szubklinikus hypothyreosis jellemzői az emelkedett TSH és az élettani tartományban lévő pajzsmirigyhormonok: az fT4 és fT3 szintjei. A nemzetközi és hazai irányelvek („guideline”-ok) alapján a TSH fontos a hypothyreosis diagnózisában és kezelésében egyaránt, ezért ennek a laboratóriumi adatnak a megtévesztően alacsony vagy magas értéke a betegek inadekvát kezelését, rosszabb esetben az alkalmazott gyógyszerek által kiváltott szövődeményeket eredményezheti. A TSH mérésének és az eredmények interpretációjának számos nehézsége és buktatója lehet. A kórosan magas érték általánosságban hypothyreosis jelez, több esetben azonban a feltűnően magas érték (40–100 IU/l felett) megtévesztő lehet és kiváltásában eltérő tényezők állhatnak [1]. Ezek közül a legkorábban a TSH-t termelő hypophysis-tumort (TSHoma) és a pajzsmirigyhormonok iránti rezisztenciát mutatták ki [2]. A megtévesztő adatok egy viszonylag kis hányadát az úgynevezett heterofil antitestek képezik. Ezek általában egérimmunoglobulin elleni antitestek (HAMA = human anti-mouse anti-body), amelyek a korszerű módszerekkel már kiszűrhetők [2]. Az utóbbi időben vetődött fel, hogy az extrém magas TSH-értékeket immunológiai okok, nevezetesen a TSH elleni antitestek okozhatják. Mivel a hypothyreosis kialakulásában világszerte a legfontosabb kiváltó tényező az autoimmun thyreoiditisek heterogén csoportja, ezért nem véletlen, hogy ebben a betegcsoportban kell gondolni a TSH elleni antitestek, a TSH és az IgG típusú TSH elleni antitestek által kiváltott immunkomplexek jelenlétére. A prolaktin esetében már korábban ismert

volt az immunkomplex által kiváltott, biológiailag inaktív, úgynevezett „big” prolaktin, amely polietilén-glikol (PEG) segítségével eltávolítható és így megközelítően reális értéket kaphatunk [3–5].

2012-ben szakgondozásunkra küldtek egy 44 éves nőbeteget az egyik kórház intenzív osztályáról. A betegnél hypothyreosist véleményeztek és tiroxinkezelést alkalmaztak növekvő dózisban. A TSH szintje azonban lényegesen nem csökkent, ezért a gyógyszer dózisát fokozatosan emelték. Az 550 µg/napi dózis hatására erős szívdobogása, majd pitvari fibrillációja alakult ki, ezért került kardiológiai osztályra. A beteg fT4- és fT3-szintje egyaránt emelkedett volt, ugyanakkor a TSH értéke elérte a 82 IU/l-t. A további vizsgálatunk során igazoltuk PEG-kicsapás módszerével a makro-TSH jelenlétét, mivel a precipitáció után a TSH értéke a 4,9 IU/l-t nem haladta meg. Ezek után prospektív vizsgálatot végeztünk 2013. március 1. és 2016. december 31. között annak eldöntésére, hogy a makro-TSH milyen arányban mutatható ki a Hashimoto-thyreoiditises betegek savójában, és milyen biológiai tulajdonsággal rendelkezik, milyen diagnosztikai és terápiás jelentősége van.

Betegek és módszer

Betegek

880 Hashimoto-thyreoiditises beteget vizsgáltunk és kezeltünk. A betegek átlagéletkora 44,8 év (28–64 év) volt (728 nő). A Hashimoto-thyreoiditis diagnózisa a nemzetközileg elfogadott kritériumokon alapult [6]. A betegek L-Thyroxin- (átlagosan 66,5 µg/nap) kezelésben részesültek, 319 beteg kapott szervesszelen-tablettát is (átlagosan 60 µg/nap).

Laboratóriumi módszerek

Hormonok, pajzsmirigy elleni antitestek meghatározása: A TSH, fT4, fT3, a pajzsmirigy-peroxidáz enzim (TPO), a TSH-receptor elleni antitestek mérését kemilumineszcens módszerrel (Elecsys 2010, Roche) végeztük (nor-

máltartományok a következők voltak: TSH: 0,27–4,2 IU/l, FT4: 0,71–1,85 pmol/l, FT3: 1,45–3,48 pmol/l, TSH-receptor elleni antitest $0,2 \pm 0,6$ IU/l, TPO elleni antitest: 0,5–60 IU/l [1, 2]. PEG-precipitációs teszt az irodalomban ismert módon történt [5]. Azonos térfogatú 25%-os PEG-et és betegszérumot kevertük össze, majd 3000 x g-vel öt percig centrifugáltuk. A felülúszót leszívtuk és a TSH-t ismét meghatároztuk. Az úgynevezett „recovery” értékét a következőképpen számítottuk:

$\text{Recovery}(\%) = 2 \times \text{TSH IU/l abszorpció után} / \text{TSH abszorpció előtt IU/l} \times 100$.

Amennyiben a recovery értéke alacsonyabb 40%-nál, az felveti a nagy molekulású fehérje (például immunoglobulin) jelenlétét. A TSH-IgG komplex kimutatását gélfiltrációs kromatográfiával végeztük [7]. A HAMA kimutatása Elecsys TSH szendvicsmódszerrel két különböző egér elleni monoklonális antitest segítségével történt [8, 9]. A TSH biológiai aktivitásának meghatározására az általunk már korábban közölt bioassay-t használtuk. Röviden: A bioassay-ben CHO-T708 jelű, humán TSH-receptor-génnel transzfektált sejteket F12 (GIBCO) 10% foetal calf szérumban tenyésztettük 25 ml-es műanyag edényekben. A tenyésztőedényekből hajlított üvegpipettával „felszedett” sejteket 24 lyukú tenyésztőtárcákba osztottuk (10^5 sejt/lyuk), 48 óra múlva 0,5 ml izobutil-metilxantin hozzáadása után két órán át inkubáltuk 37 °C-on a kontrollegyénekből és a betegből származó savó jelenlétében. Az intracelluláris cAMP meghatározása RPA 509 cAMP kit (Amersham) felhasználásával történt [10–12]. Az intraassay 12,7%, az intraassay-koefficiens 21% volt.

A protein G agaróz abszorpció teszt lényege, hogy képes megkötni a szérum-IgG-t. A protein G agarózt (Roche Diagnostics) és a betegsavót azonos mennyiségben összemértük és inkubáltuk 4 °C-on három órán át, majd centrifugáltuk 12000 g-vel öt percen át, a szuperatans TSH-tartalmát határoztuk meg [13].

Eredmények

A PEG-precipitációs módszerrel a 880 beteg savójából 41 esetben (4,6%-ban) tudtuk a makro-TSH-t kimutatni. Ezeknek a betegeknek az átlag-TSH-értéke 185,4, a PEG-precipitáció után 5,52 IU/l volt (1. táblázat). Az anti-TPO-antitest titera a kezelés kezdetén 445 ± 51 IU/l, a szint fokozatosan csökkent, a vizsgálat befejezésekor 212 ± 51 IU/l volt. A makro-TSH-t hordozó betegek FT4 és FT3 értékei a kezelés kezdetén nem voltak kórosak (FT4: $3,2 \pm 1,1$ pmol/l, FT3: $1,1 \pm 0,4$ pmol/l). A makro-TSH lineáris hígítása során nem észleltünk az emelkedett TSH hígítása során elvárható linearitást (2. táblázat). A protein G abszorpció módszerrel történő kezelés után az addig igen magas TSH-értékek jelentősen csökkentek, jelezvén, hogy a TSH-t immunoglobulin kötheti meg (3. táblázat). A gélfiltrációs kromatográfiával elkülönült a makro-TSH, az IgG és a monomer TSH, bizonyítván, hogy a TSH-t megkötő IgG típusú antitest

1. táblázat | A kontroll és a makro-TSH-t tartalmazó savók TSH-szintjének vizsgálata PEG-precipitáció előtt és után

Vizsgálat	TSH (mU/l)		
	PEG előtt	PEG után	Recovery (%)
Betegsavó n = 41	185 ± 35	5,1 ± 1,2	5,51

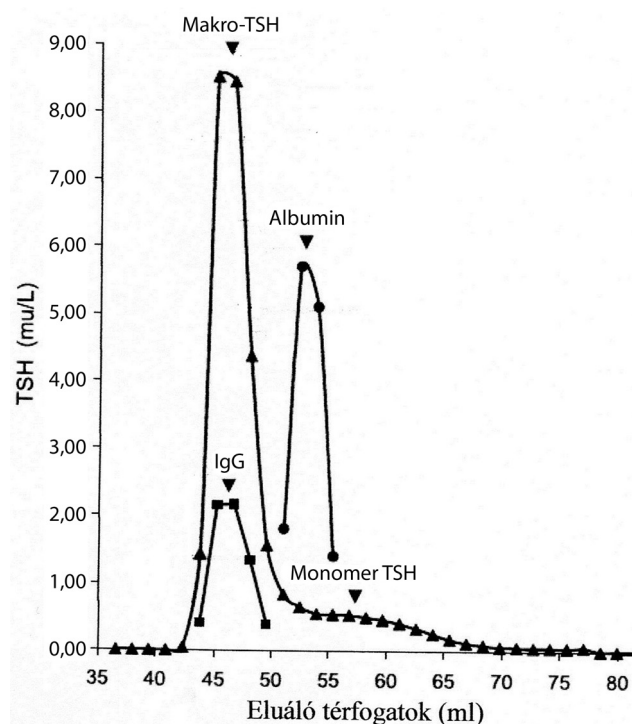
2. táblázat | A makro-TSH-t tartalmazó savó nemlineáris hígítása

Szérum	Nem hígított	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
TSH (mU/l)	121,4	102,8	94,2	89,2	88,2	72,1

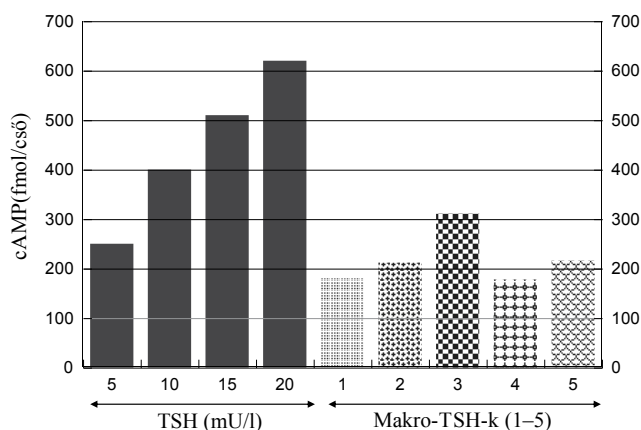
3. táblázat | Protein G abszorpció teszt a beteg- és a kontrollsavóval

	TSH (mU/l) abszorpció előtt	TSH (mU/l) abszorpció után
Beteg	121,4	7,2
Kontroll	2,7	1,9

van jelen (1. ábra). TSH-R elleni antitestet egyik betegben sem találtunk. A makro-TSH biológiai aktivitását a CHO-sejteken nem lehetett kimutatni (2. ábra). Ez azt jelzi, hogy nagy molekulású TSH nem képes a TSH-receptorral transzfektált sejteket stimulálni. A makro-TSH-t átlagosan $18 \pm 3,2$ hónapon át tudtuk kimutatni a szelénnel nem kezelt és $12 \pm 1,9$ hónapon át a szelén-



1. ábra | Gélfiltrációs kromatográfiával elkülönült a TSH-t kötő makro-TSH, az IgG és a monomer TSH, illetve az albumin

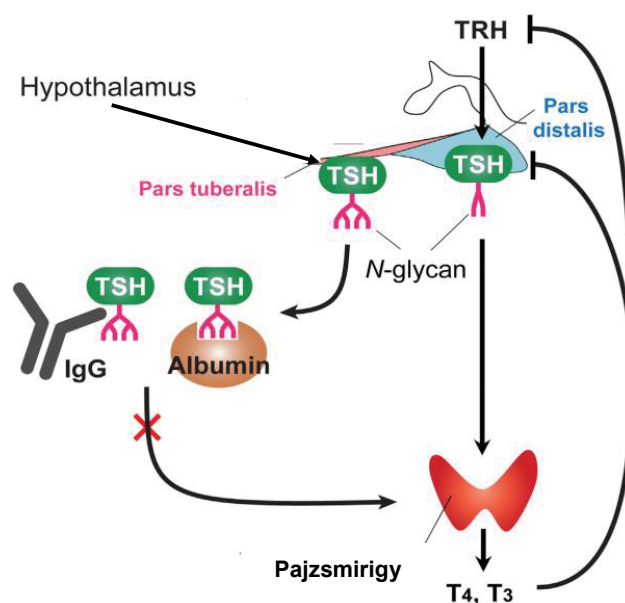


2. ábra | A bovin TSH és a makro-TSH hatása a TSH-receptorral transz-fektált CHO-sejtek cAMP-produkciójára

nel kezelt betegekben. Az anti-TPO-szint 445 ± 51 IU/l volt és fokozatosan csökkent 212 ± 41 IU/l-re egyéves tiroxin- és szelénkezelés után.

Megbeszélés

A TSH pontos meghatározásának mind a diagnosztikában, mind a pajzsmirigybetegek kezelésében, gondozásában egyaránt jelentőséget tulajdonítanak. Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a betegek nem elhanyagolható számában, 4,6%-ban a makro-TSH kimutatható volt. A makro-TSH egy TSH-anti-TSH-antitest (IgG) komplex, amelyik nem mutat biológiai aktivitást. Ezeknek a keringő immunkomplexeknek klinikai jelentősége az, hogy a magas TSH-szint ellenére a betegek perifériás hormonjainak szintje élettani tartományban van, és nem észlelhetők a hypothyreosis klinikai tünetei sem. Ezekben az esetekben a pajzsmirigy hormonjainak pótlása során óvatosság szükséges és nem kell törekedni az ideális TSH-szint elérésére, mivel a nagy dózisú T4 adása hyperthyreosisra utaló tüneteket, súlyosabb esetben szövődményeket okozhat. Amennyiben a laboratóriumi leletek és a klinikai tünetek jelentősen eltérnek, a PEG-precipitációs, egyszerű módszerrel igazolhatjuk a makro-TSH jelenlétét. Az irodalmi adatok is azt erősítik meg, hogy a makro-TSH leginkább az autoimmun eredetű pajzsmirigybetegek savójában mutatható ki [13–16]. A szelénkezelés kedvező hatása a makro-TSH-szintre a gyógyszer immunológiai hatásaival állhat összefüggésben [17]. Jóllehet, az utóbbi időben néhány közleményben felhívták a figyelmet a jelenség fontosságára, azonban keletkezésével kapcsolatban több nyitott kérdés maradt. Az esetleges álpozitivitást okozó egérimunglobulin elleni heterofil antitestek szerepét sikerült kizárnunk és az sem valószínű, hogy a korábbi oltások (hCG) lennének felelősek a jelenségért, mivel ilyen adatot és összefüggést nem találtunk. A makro-TSH-komplexet több hónapon át is kimutattuk a betegek keringésében. Fon-



3. ábra | A makro-TSH kialakulásának hipotetikus sémája

tos megjegyezni, hogy a szelénrel kezelt betegek savójában nemcsak az anti-TPO-titer csökkenése volt feltűnő, hanem a keringő komplexek eltűnése is. Ez a jelenség a szelénnek az autoimmun mechanizmusra és a pajzsmirigyműködésre kifejtett hatásaival állhat összefüggésben [17, 18]. A makro-TSH kialakulásának okát nem tudjuk, de közelebb vihetnek a jelenség megértéséhez a TSH molekuláira vonatkozó újabb adatok. Ismert, hogy a TSH az agyalapi mirigyből származó glikoprotein hormon. A hypophysis pars distalis részéből eredő TSH (PD-TSH) stimulálja a pajzsmirigyet, míg a pars tuberalisban termelődő TSH (PT-TSH) a pajzsmirigyre nem hat, de a biológiai órát, az alvás minőségét a hypothalamuson keresztül befolyásolja [17]. Ismert, hogy a PD-TSH szulfatált, illetve N-glikán-kötésekkel rendelkezik és gyorsan lebomlik a májban, a fél életideje 18,7 óra. Ezzel szemben a PT-TSH többágú elágazású N-glikánokkal rendelkezik és lebomlási ideje eléri a hét napot. A PT-TSH heterodimer lényegesen stabilabb molekula, mint a PD-TSH. Kiderült az is, hogy a PT-TSH megköti az immunglobulint (IgG2b-t) és ezáltal lényeges szerepe lehet a makro-TSH képződésében (3. ábra). A makro-TSH biológiai és patológiai jelentőségének jobb megismeréséhez további vizsgálatok szükségesek. Klinikai szempontból fontos, hogy amikor a TSH 40,0 IU/l vagy ezen érték feletti értéket találunk a hypothyreosis jelei nélkül, gondolnunk kell a makro-TSH jelenlétére.

Anyagi támogatás: A közlemény megírása anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: B. Cs.: A téma célkitűzése, beteg vizsgálat, laboratóriumi tesztek elvégzése, közlemény megírása. R. K.: Szakrendelésen a betegek vizsgálata, az eredmények értékelése, következtetések levonása. A cikk végleges változatát a levelező szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Irodalom

- [1] Garber JR, Cobin RH, Gharib H, et al. Clinical Practice Guidelines for hypothyroidism in adults: Cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract.* 2012; 18: 988–1028.
- [2] Beck-Peccoz P, Lania A, Beckers A, et al. 2013 European Thyroid Association Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Thyrotropin-Secreting Pituitary Tumors. *Eur Thyroid J.* 2013; 2: 76–82.
- [3] Leslie H, Courtney CH, Bell PM, et al. Laboratory and clinical experience in 55 patients with macroprolactinemia identified by a simple polyethylene glycol precipitation method. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 2743–2746.
- [4] Hattori N, Ishihara T, Matsuoka N, et al. Anti-thyrotropin autoantibodies in patients with macro-thyrotropin and long-term changes in macro-thyrotropin and serum thyrotropin levels. *Thyroid* 2017; 27: 138–146.
- [5] Hattori N, Ishihara T, Yamagami K, et al. Macro TSH in patients with subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015; 83: 923–930.
- [6] Van Zuuren EJ, Albusta AY, Fedorowicz Z, et al. Selenium supplementation for Hashimoto's thyroiditis: Summary of a Cochrane systematic review. *Eur Thyroid J.* 2014; 3: 25–31.
- [7] Sakai H, Fukuda G, Suzuki N, et al. Falsely elevated thyroid-stimulating hormone (TSH) level due to macro-TSH. *Endocr J.* 2009; 56: 435–440.
- [8] Ikegami K, Liao XH, Hoshino Y, et al. Tissue-specific posttranslational modification allows functional targeting of thyrotropin. *Cell Rep.* 2014; 9: 801–809.
- [9] Sapin R, Gasser F, d'Herbomez M, et al. Elecsys thyrotropin (TSH) assay evaluated. *Clin Chem.* 1997; 43: 545–547.
- [10] Kiss E, Matkó J, Farid NR, et al. Measurement of biological activity of TSH-receptor antibodies using TSH-receptor transfected Chinese hamster ovary (CHO) cells. [TSH-receptor elleni autoantitestek biológiai aktivitásának mérése humán TSH-receptor-génnel transzfektált Chinese Hamster Ovary (CHO) sejteken.] *Magy Belorv Arch.* 2001; 54: 85–88. [Hungarian]
- [11] Kiss E, Balázs Cs, Bene L, et al. Effect of TSH and anti-TSH-receptor antibodies on the plasma membrane potential of polymorphonuclear granulocytes. *Immunol Lett.* 1997; 55: 173–177.
- [12] Oliveira JH, Barbosa ER, Kasamatsu T, et al. Evidence for thyroid hormone as a positive regulator of serum thyrotropin (TSH) bioactivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 3108–3113.
- [13] Mills F, Jeffery J, Mackenzie P, et al. An immunoglobulin G complexed form of thyroid-stimulating hormone (macro thyroid-stimulating hormone) is a cause of elevated serum thyroid-stimulating hormone concentration. *Ann Clin Biochem.* 2013; 50: 416–420.
- [14] Drees JC, Stone JA, Reamer CR, et al. Falsely undetectable TSH in a cohort of South Asian euthyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99: 1171–1179.
- [15] Mendoza H, Connacher A, Srivastava R. Unexplained high thyroid stimulating hormone: a “BIG” problem. *BMJ Case Rep.* 2009; 2009: bcr01.2009.1474.
- [16] Kadoya M, Koyama S, Morimoto A, et al. Serum macro TSH level is associated with sleep quality in patients with cardiovascular risks – HSCAA Study. *Sci Rep.* 2017; 7: 44387.
- [17] Balázs Cs, Kaczur V. Effect of selenium on HLA-DR expression of thyrocytes. *Autoimmune Dis.* 2012; 2012: 374635.
- [18] Hu S, Rayman MP. Multiple nutritional factors and the risk of Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* 2017; 27: 597–610.

(Balázs Csaba dr.,
Budapest, Lövház u 1–5., 1024
e-mail: drbalazscsaba@gmail.com)

Tisztelt Szerzőink, Olvasóink!

Az Orvosi Hetilapban megjelenő/megjelent közlemények elérhetőségére több lehetőség kínálkozik.

Rendelhető különnyomat, melynek áráról bővebben a www.akkrt.hu honlapon (Folyóirat Szerzőknek, Különnyomat menüpont alatt) vagy Szerkesztőségünkben tájékozódhatnak.

A közlemények megvásárolhatók pdf-formátumban is, illetve igényelhető Optional Open Article (www.oopenart.com).

Adott díj ellenében az online közlemények bárki számára hozzáférhetők honlapunkon (a közlemények külön linket kapnak, így más oldalról is linkelhetővé válnak).

Bővebb információ a hirdetes@akkrt.hu címen vagy különnyomat rendelése esetén a Szerkesztőségtől kérhető.