

# Szérum thyreoglobulin és thyreoglobulin-ellenes antitest meghatározásának klinikai jelentősége pajzsmirigyrákkal műtött betegek vizsgálata során

Vincze Borbála,<sup>2</sup> Sinkovics István,<sup>3</sup> Keresztes Sándor,<sup>3</sup> Gergye Mária,<sup>4</sup> Boér András,<sup>5</sup> Remenár Éva,<sup>5</sup> Péter Ilona,<sup>6</sup> Szentirmay Zoltán,<sup>7</sup> Kremmer Tibor,<sup>2</sup> Kásler Miklós<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Országos Onkológiai Intézet, <sup>2</sup>Biokémiai Osztály, <sup>3</sup>Nukleáris Medicina Osztály,

<sup>4</sup>Klinikai Központi Laboratórium, <sup>5</sup>Fej-Nyak, Állcsont, Laser és Helyreállító Plasztikai Sebészeti Osztály,

<sup>6</sup>Humán és Kísérletes Daganatpatológiai Osztály, <sup>7</sup>Molekuláris Patológiai Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Budapest,

Az elmúlt hat évben 715 papillaris és 179 follicularis pajzsmirigy-carcinomával radikálisan műtött és radionuklid ablatiós terápiában részesült beteg esetében „Az Onkoterápia Irányelvei” által meghatározott protokoll alapján a primer kezelést követően háromhavonta, majd két év elteltével fél évente mértük a szérumban thyreoglobulin- (Tg), Tg-ellenes antitest- (TgAb), TSH- és FT4-szinteket. Munkánk célja a hormonpótló kezelés alatt álló betegek szérumban Tg- és TgAb-értékeinek individuális, retrospektív klinikai-diagnosztikai elemzése volt. A keringő Tg- és TgAb-koncentrációkat nagy érzékenységgel immunradiometrikus (IRMA), ill. a második generációs, világviszonylatban leginkább elfogadott, DYNO test anti-Tg RIA kittel határoztuk meg. A vizsgálatok ideje alatt a negyedik generációs LIAISON® kittel mért TSH-szintek 0,05-0,1 mIU/L értéktartományon belül voltak. A szérumban Tg-koncentráció a totális thyreoidectomiát követően a TSH-szupprimált betegek jelentős részénél (746/774, 96%) nem haladta meg a 2 ng/ml küszöbértéket. A Tg-mérés szenzitivitása tüdő- és csontáttétes betegek (N = 59) rendszeres és időszakos mérési adatai alapján elérte a 86-100%-ot. Ezzel szemben a papillaris carcinoma nyirokcsomó-metastasis vizsgálata során magas volt a hibásan negatív mérések száma (11/29, 38%) és a szenzitivitás nem haladta meg a 62%-ot. A TgAb-negatív betegek vizsgálata során a Tg-mérés szenzitivitása és specificitása 91-100% volt. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a szérumban Tg-szint adekvát értelmezéséhez a TgAb-meghatározás szükséges. Alacsony Tg-szint esetén a folyamatosan magas, ill. emelkedett Tg-ellenes antitest szérumban koncentrációja diagnosztikai értékkel bír. *Magyar Onkológia* 48:27-34, 2004

Serum thyroglobulin (Tg) is a suitable marker for differentiated thyroid carcinoma following total thyroid ablation. Between 1998 and 2003, serum samples from 715 papillary and 179 follicular tumor patients treated with total/nearly total thyroidectomy and radioiodine ablation therapy were collected. According to the „Guidelines for Oncotherapy in Hungary”, serum Tg, antithyroglobulin antibody (TgAb), TSH and FT4 levels were measured in periods of 3 months following the first treatment and of 6 months after 2 years. In the present work the prognostic value of Tg and TgAb data of cancer patients with hormone substitution therapy were evaluated individually and retrospectively. Serum Tg and TgAb concentrations were measured with a highly sensitive immunoradiometric (IRMA) method, and with a second generation, broad epitope specificity competitive radioimmunoassay, respectively. TSH levels determined by fourth generation LIAISON® kit were in a range of 0.05-0.10 mIU/L. Accuracy of measuring of Tg < 1 ng/ml made it possible to select the low cut-off level (Tg < 2 ng/ml) following total thyroidectomy. In the predominant part of TSH-suppressed patients (746/774, 96%) the serum Tg concentration was below the cut-off level of 2 ng/ml. The sensitivity of Tg determination in 59 TSH-suppressed thyroid cancer patients with lung and bone metastases was as high as 86 to 100%. On the contrary, the number of false negative data was high in cases with lymph node metastases of papillary cancer, and sensitivity did not exceed 62%. Specificity and sensitivity of Tg in TgAb negative patients were 91 to 100%. Based on our results it could be concluded that measuring of Tg and TgAb, using a current IRMA method and a second generation RIA kit, proved to be effective tools for the postoperative monitoring of differentiated thyroid tumours. It has to be noted that determination of TgAb is highly recommended for the adequate interpretation of serum Tg levels. Persistently high and/or increasing serum TgAb concentration with low Tg result had a diagnostic value during the follow-up and can be connected with the recurrence or persistence of the differentiated thyroid cancer. Vincze B, Sinkovics I, Keresztes S, Gergye M, Boér A, Remenár É, Péter I, Szentirmay Z, Kremmer T, Kásler M. Clinical significance of serum thyroglobulin and antithyroglobulin antibody in differentiated thyroid cancer after thyroid ablation. *Hungarian Oncology* 48:27-34, 2004

Közlésre érkezett: 2004. január 15. Elfogadva: 2004. január 26.

Levelezési cím: Dr. Vincze Borbála, Országos Onkológiai Intézet, Biokémiai Osztály, 1122 Budapest, Ráth György u. 7-9., tel.: 1-224-8781, fax: 1-224-8681, e-mail: vincze@oncol.hu

## Bevezetés

A pajzsmirigyrák a ritkán előforduló daganatok közé tartozik, közel 90%-a magasán differenciált papillaris (70–80%) és follicularis (10–15%) szövettani típusokba sorolható. A differenciált pajzsmirigyrákos betegek túlélésének daganatspecifikus adatai az iparilag fejlett országokban folyamatosan javultak, és a mortalitás jelenleg az évenként regisztrált új megbetegedések mindössze 10%-a (7, 12). A hazai papillaris és follicularis carcinomák 20 éves átlagos daganatspecifikus túlélési valószínűsége 80–90%, illetve 70–80% (6, 9). A betegcsoportokra jellemző kedvező betegségmentes túlélés és lassú progresszió tervszerű utógondozás keretében lehetővé teszi az évekkel korábban operáltak időszakos és rendszeres vizsgálatát. A differenciált papillaris és follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött betegek posztoperatív monitorozása során a szérum thyreoglobulin (Tg) meghatározása, mint igen specifikus marker, fokozott jelentőséggel bír a tumorrecidívák, ill. az áttétek korai felismerésében. A Tg-t a pajzsmirigy folliculus sejtjei, illetve a belőlük kialakult daganatsejtek szintetizálják. Ez a glikoprotein, ill. annak tirozintartalma a pajzsmirigyhormonok prekursor molekulája. A Tg molekulában történő pajzsmirigyhormon-szintézis a  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  symporter (NIS) (4), a Pendred-szindróma gén által kódolt pendrin fehérje (24), a thyreoperoxidáz (TPO) és a  $\text{H}_2\text{O}_2$ -szabályzó rendszer, a thyroid oxidáz 1 és 2 (ThOX1,2) (5) összehangolt működésének eredménye. Legújabb irodalmi adatok alapján a pajzsmirigyráksejtek elvesztik azon képességüket, hogy T4-ben gazdag, jódozott Tg-t szintetizáljanak (13). A fehérje a pajzsmirigyhormonok szintézise és kiválasztása során polimerizálódik és degradálódik, majd a sejtmembrán depolarizálódása/dezintegrálódása után a perifériás vérkeringésbe kerül. A Tg-felszabadulás számos pajzsmirigybetegségben (toxikus göbök, thyreoiditis) fokozódik, ezért preoperatív diagnosztikai értéke korlátozott.

A szérum Tg-meghatározás szenzitivitását és specificitását, azaz a mért Tg-szint diagnosztikai és prognosztikai értékét négy tényező befolyásolja: 1. a maradék pajzsmirigyállomány és/vagy a differenciált pajzsmirigyrák tömege, 2. a stimulálható TSH-receptorok száma, 3. az alkalmazott analitikai (mérési) technika, és 4. a szérumban Tg-ellenes antitest (TgAb) jelenléte.

A keringő tumormarkszint küszöb- („cut-off”) értékének helyes megválasztását a maradék pajzsmirigyállomány mennyiségének és a thyreotrop stimuláló hormon (TSH) szérum szintjének ismerete teszi lehetővé (3). Az eredmény csak kétoldali totális/közel totális thyreoidectomia után értékelhető megfelelő biztonsággal. Kétoldali totális thyreoidectomiát követően állandó szupprimált TSH-szint esetében a marker-vizsgálatok során alkalmazott nagy érzékenységű analitikai módszerek már a  $\text{Tg} < 2\text{--}5 \text{ ng/ml}$  („cut-off”) értéke felett jelzik a micrometastasis megjelenését (14, 27, 29).

Az Országos Onkológiai Intézet kezdeményezésére a pajzsmirigydaganatokkal foglalkozó hazai szakemberek és az érintett határterületek képviselői 2000-ben javaslatot tettek a rosszindulatú pajzsmirigydaganatok kivizsgálásának, prognosztizálásának és követésének korszerű hazai gyakorlatára (8, 17). A follicularis és a papillaris tumortípusnál a daganatspecifikus túlélés javítása céljából 2000 óta javasolt a sebészeti beavatkozások radikalitásának növelése és az adjuváns/terápiás céllal adott radionuklid-terápia alkalmazása. A maradék pajzsmirigyállomány mennyiségének pontos meghatározása képalkotó diagnosztikai eljárásokkal történt. A műtét radikalitása hat héttel a műtétet követően a szérum Tg-szint mérésével jellemezhető.

A Tg szintézise a TSH kontrollja alatt áll, ezért a hosszú távú betegkövetés során szükség van a küszöbértéket befolyásoló TSH-szint rendszeres meghatározására. Papillaris/follicularis carcinoma esetén a pajzsmirigyhormont TSH-szuppresszív dózisban kell adagolni, hogy a TSH ne stimulálhassa a daganatok TSH-receptort expresszáló sejtjeit. A TSH szérumkoncentrációjának ajánlott értéke  $0,05\text{--}0,1 \text{ mIU/L}$ . A Tg marker érzékenysége endogén TSH-koncentráció emelkedésével, azaz a TSH-szuppresszió megszüntetésével, valamint humán TSH (rhTSH) adagolásával fokozható (20, 26).

A Tg-szint adekvát értelmezéséhez a Tg-méréssel egyidejűleg meg kell határozni a betegek vérében gyakran jelenlévő Tg-ellenes antitest (TgAb) koncentrációját is. Csak a TgAb-szint ismeretében dönthető el biztonsággal, hogy az adott Tg-szint valódi-e vagy csak látszólagos. A pajzsmirigy-carcinoma antigén stimuláló hatása összefüggést mutat a tumor differenciáltsági fokával. A TgAb gyakrabban fordul elő nőkben, mint férfiakban, és nem korfüggő. Irodalmi adatok alapján a műtétet követően normalizálódott, majd a posztoperatív monitorozás során megemelkedett TgAb-szint diagnosztikai és prognosztikai értékkel bírhat, és jelentősége lehet a differenciált pajzsmirigy-carcinoma gondozásában (2, 28).

A keringő Tg koncentrációjának mérése kompetitív radioimmunkémiai (RIA) és nagy érzékenységű immunradiometrikus (IRMA) módszerekkel történik. A klinikai értékelés során azonban figyelembe kell venni, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható, különböző antitest(ek)et tartalmazó kitékkel mért adatok a megengedett biológiai szórást ( $\pm 10\%$ ) jóval meghaladó eltérést mutatnak, és ezért az eredmények nehezen hasonlíthatók össze (13). A hiba kiküszöbölése céljából új generációs IRMA kitéket hoztak forgalomba, melyek monoklonális és poliklonális antitesteket egyaránt tartalmaznak, ennek következtében alkalmasak a különböző Tg-izoformák széles spektrumának precíz és megbízható vizsgálatára (14, 21). IRMA módszer alkalmazásakor további hibalehetőség az úgynevezett „high dose hook effect” kialakulása, melyet a nagyon magas Tg-szint okoz. A mérés pontossága érdekében a legmagasabb standard koncentrációt meghaladó Tg-értéknél a vizsgálatot hígított mintából meg kell ismételni.

Az immunkémiai módszerek szenzitivitását nagymértékben befolyásolja, esetleg meghamisítja a Tg-ellenes antitest jelenléte, mely IRMA módszer alkalmazásakor az antigén jelentős hányadának megkötése révén álnegatív, míg RIA DAB vizsgálat során interferencia kialakulásakor álpozitív Tg-szintet is eredményezhet (2). Az utóbbi években a Tg-méréssel párhuzamosan minden esetben javasolt a TgAb-meghatározás elvégzése is (1, 2, 28). A TgAb-szint közvetlen meghatározására szolgáló első generációs laboratóriumi eljárások egy részében sajnálatos módon a specifitás nem megfelelő, mert keresztreakciók észlelhetők más antitestekkel. A szelektivitás fokozására új generációs RIA vizsgálatot dolgoztak ki, mely humán pajzsmirigyszövetből extrahált Tg-t és poliklonális humán antitestet tartalmaz.

Munkánk célja follicularis és papillaris pajzsmirigyrákkal műtött, hormonpótló kezelés alatt álló betegek szérumban Tg- és TgAb-értékeinek individuális, retrospektív klinikai-laboratóriumi értékelése volt. Radikálisan műtött és radionuklid ablatiós terápiában részesült, tumormentes és átütetes betegek posztoperatív monitorozása során meghatároztuk a marker tumorspecifitását és szenzitivitását (küszöbérték =  $Tg < 2 \text{ ng/ml}$ ). Párhuzamosan elemeztük a Tg- és a TgAb-szinteket annak érdekében, hogy tisztázzuk, a TgAb-vizsgálat növeli-e a Tg-meghatározás szenzitivitását. Tanulmányoztuk, hogy az új generációs TgAb kittel mért Tg-ellenes antitest tartósan emelkedett szérumban koncentrációja összefüggésbe hozható-e a tumorrecidívák és/vagy a micrometastasisok megjelenésével.

## Anyag és módszer

### Beteganyag

Az utóbbi 6 évben több mint 12000 szérumban Tg- és TgAb-meghatározást végeztünk. A tanulmány keretében szövettanilag igazolt 715 papillaris és 179 follicularis pajzsmirigy-carcinómával radikálisan műtött (totális/közel totális thyreoidectomia) és radionuklid ( $^{131}\text{I}$ -dal jelzett NaI) ablatiós terápiában részesült beteg rendszeres vizsgálatának adatait elemeztük. A posztoperatív követési időszakban (15-94 hónap) „Az Onkoterápia Irányelvei” által meghatározott kezelési protokoll alapján (10), a primer kezelést követően háromhavonta, majd két év elteltével félévente határoztuk meg a szérumban Tg-, TgAb-, TSH- és FT4-szinteket, betegenként legalább 3 (legtöbbször 16) alkalommal. A vérvétel általában TSH-szupprimált állapotban történt. A vizsgálatokhoz a reggeli órákban 10 ml alvadásban nem gátolt vért vettünk. A vért centrifugáltuk (1200xg, 10 perc, 0-4°C) és a Tg-, TgAb-, FT4- és TSH-méréseket a szérumból végeztük. A szérumokat feldolgozásig -20°C-on tároltuk.

### Módszerek

A szérumban Tg-koncentrációt bevont csöves szeparálási technikán alapuló, második generációs

IRMA kitekkel határoztuk meg (IRMA-mat<sup>R</sup> Thyroglobulin, Byk-Sangtec Diagnostica, Germany; Tg-CTK DiaSorin, Italy), melyek egységes összetételű monoklonális (egér) és poliklonális (nyúl) antitestet tartalmaztak. Vizsgálataink során nemzetközileg elfogadott referenciaanyagra (Certified Reference Material /CRM/ 457) standardizált kitekkel alkalmaztunk. A kimutathatósági határ  $< 0,075 \text{ ng/ml}$  (átlag  $\pm 2SD$ ), a referenciatartomány  $2-70 \text{ ng/ml}$ , a mérési tartomány  $0,010-1000 \text{ ng/ml}$ , a mérés pontosságára jellemző „intra-assay precision” variációs koefficiens 13,9% volt. A „high-dose hook-effect”  $1000 \text{ ng/ml}$  alatt nem mutatható ki. A kit  $0,05 \text{ ng/ml}$ -es analitikai érzékenységet és  $0,3 \text{ ng/ml}$ -es funkcionális érzékenységet (a  $< 20\%$  inter-assay variációs koefficienssel mérhető legkisebb koncentráció) biztosított.

A szérumban Tg-ellenes antitest vizsgálatát DYNO test anti-Tg<sub>n</sub> (BRAHMS, Germany), világviszonylatban leginkább elfogadott második generációs RIA kittel végeztük. A technika lényege a humán pajzsmirigyszövetből extrahált  $^{125}\text{I}$ -dal jelzett Tg és a poliklonális, humán Tg elleni antitesttel bevont szilárd fázis. Az intra-assay variációs koefficiens átlagosan 5%, az inter-assay variációs koefficiens 7,5% volt a  $0,6-4,5 \text{ ng/ml}$  koncentrációtartományban. Az analitikai szenzitivitás  $5,5 \text{ U/ml}$  és a funkcionális érzékenység  $< 20 \text{ U/ml}$ . A referenciatartomány  $< 60 \text{ U/ml}$ , a méréstartomány  $0-2000 \text{ U/ml}$  volt.

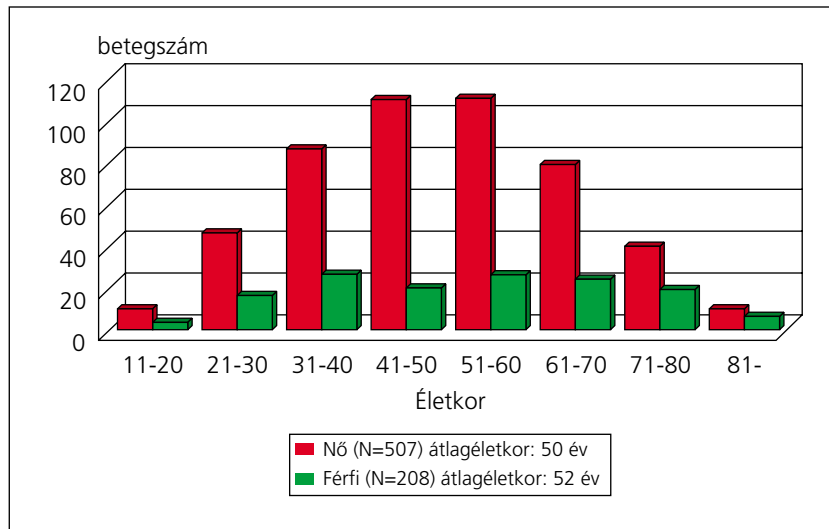
A TSH-meghatározást negyedik generációs LIAISON<sup>®</sup> (DiaSorin, Italy) kittel végeztük, mely két specifikus monoklonális antitestet alkalmaz (egy szilárd fázishoz kötött és egy izoluminol-származékkal jelölt) és szendvics típusú immunoluminometrikus meghatározáson alapul. A kit standardként az MRC 80/558 referenciamintát tartalmazza. A referenciatartomány  $0,3-3,6 \text{ mIU/L}$ , a mérési tartomány  $0,004-100 \text{ mIU/L}$  volt. A „high-dose hook-effect”  $1000 \text{ mIU/L}$  alatt nem mutatható ki. A kimutathatósági határ  $< 0,004 \text{ mIU/L}$  (átlag  $\pm 2SD$ ), a funkcionális érzékenység  $< 0,02 \text{ mIU/L}$  volt.

A LIAISON<sup>®</sup> FT4 „Solid Phase Antigen Linked Technique” (SPALT) elven alapuló kompetitív luminoimmunoassay, mely mágneses partikulumokhoz kötött T4-konjugátumot és nagy specifitású, izoluminol-származékkal jelölt monoklonális anti-tiroxin antitestet használ. A módszert szimmetrikus dialízist alkalmazva kalibrálták. A kalibráció alapja a 10-pontos mestergörbe. Az aktuális munkagörbét két kalibrátorral kéthetente kell felvenni. A valósság ellenőrzését a BIORAD háromszintű Lyphocheck Immunoassay Plus kontrolljával végeztük. Referenciatartomány  $10,29-21,88 \text{ pmol/L}$ , mérési tartomány  $1,29-128,7 \text{ pmol/L}$ . Kimutathatósági határ  $< 1,28 \text{ pmol/L}$ .

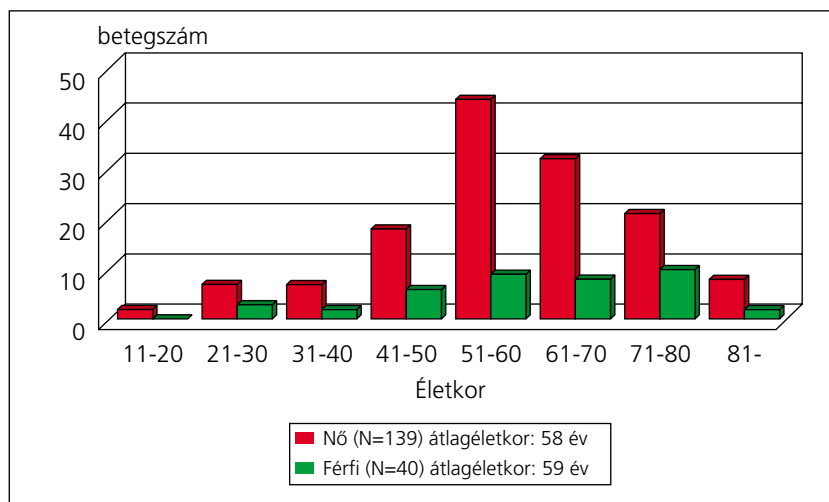
A méréseket CE minősítéssel rendelkező automatizált RIA analizátorral és teljes automata, betegszelektív kemilumineszcens immunoassay analizátorral végeztük.

A mérések szelektivitását és specifitását MedCalc<sup>®</sup> program alkalmazásával határoztuk meg.

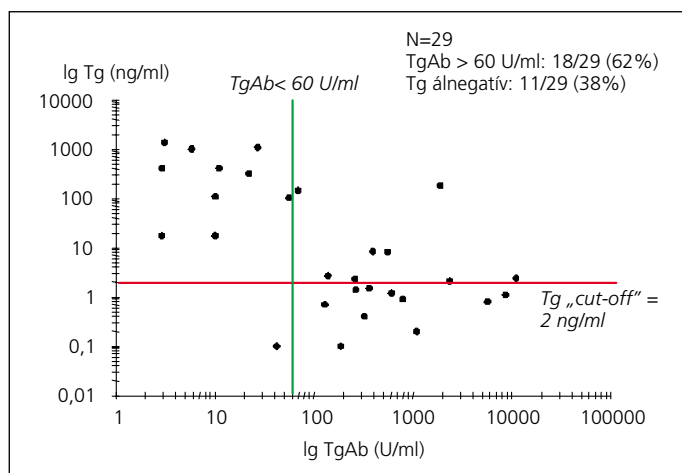
1. ábra. Papillaris pajzsmirigy-carcinomával műtött, intézetünkben kezelt betegek korcsoport és nem szerinti megoszlása



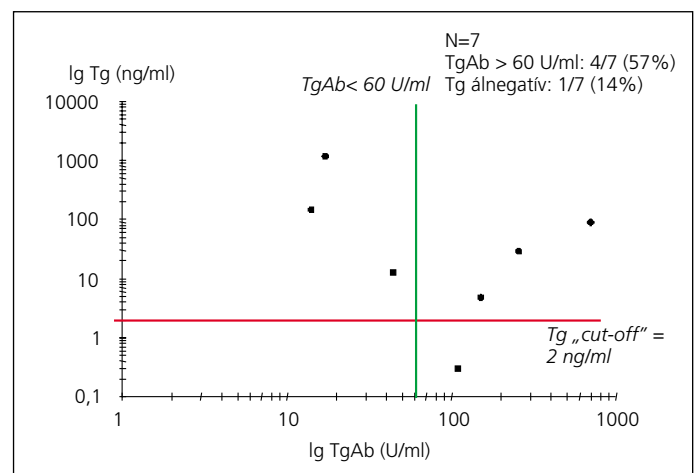
2. ábra. Follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött, intézetünkben kezelt betegek korcsoport és nem szerinti megoszlása



3. ábra. A szérumban Tg- és TgAb-szintek összefüggése papillaris pajzsmirigy-carcinomával műtött nyirokcsomó-áttétes betegek posztoperatív követése során. Egy-egy pont az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt Tg- és TgAb-mérés átlaga



4. ábra. A szérumban Tg- és TgAb-szintek diagnosztikai értékének vizsgálata lokális recidíva esetén papillaris pajzsmirigy-carcinomával műtött betegek posztoperatív követése során. Egy-egy pont az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt Tg- és TgAb-értékek átlaga



## A betegek klinikai állapotának jellemzése

A maradék pajzsmirigyállomány mennyiségének vizsgálata, valamint a perzisztens vagy a kiújuló tumor kizárása, illetve bizonyítása képalkotó diagnosztikai eljárásokkal történt (nyaki ultrahang, nyaki és mellkasi CT/MRI, PET, mellkas-röntgenfelvétel,  $^{99m}\text{Tc}$ -per technetát-pajzsmirigy-szcintigráfia és az egésztest  $^{131}\text{I}$ -szcintigráfia). Az adatok individuális számítógépes feldolgozását folyamatosan végezzük. Az 1998 és 2003 között végzett Tg- és TgAb-vizsgálatok retrospektív elemzését a kezelést végző szakorvossal konzultálva, a TSH- és FT4-meghatározások, valamint a képalkotó diagnosztikai vizsgálatok eredményeit figyelembe véve (maradék pajzsmirigyállomány tömege, lokális recidíva, metastasis lokalizációja stb.) végeztük el.

## Eredmények

Az Országos Onkológiai Intézetben 1998-2003 között kezelt 715 papillaris és 179 follicularis carcinomával műtött beteg átlagéletkora 50,8 (12-91), illetve 58,3 év (18-91) volt. A papillaris carcinoma előfordulásának gyakorisága a 40-60 év közötti korcsoportban, míg a follicularis carcinoma megjelenése a közel tíz évvel idősebb, 50-70 éves korosztályban volt a legmagasabb (1-2. ábra). A klinikailag releváns papillaris és follicularis pajzsmirigy-rák nőkben 3,44-szer, illetve 3,48-szor gyakrabban fordult elő, mint férfiakban. A harminc év fölötti nőknél a papillaris carcinoma gyakorisága az azonos korú férfi betegekhez viszonyítva már négy-ötszörösére emelkedett. A follicularis rák előfordulása nőknél a praemenopausában és a menopausát követően erőteljesen növekedett.

## A szérumban Tg-vizsgálat specifitása

A kórelőzmények ismeretében Tg-, TgAb-, FT4- és TSH-meghatározásokat végeztünk 638 papillaris és 136 follicularis pajzsmirigy-rákkal műtött, klinikailag tumormentes betegnél, és elemeztük a tumormar-

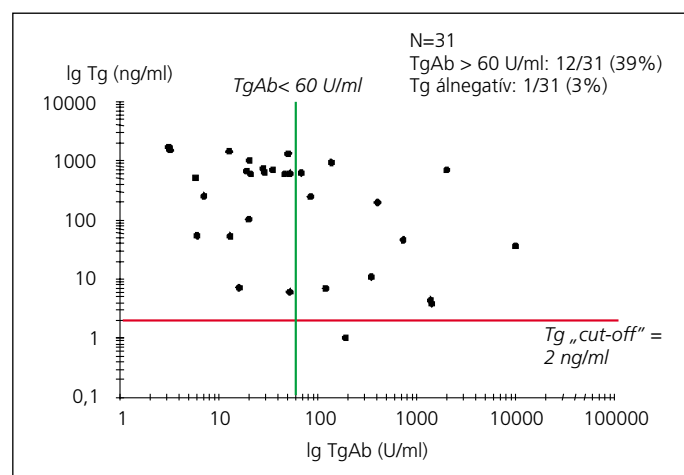
ker klinikai-diagnosztikai értékét. A betegek a radiális műtétet és a radiojód-kezelést követően szuppresszív thyroxin kezelésben részesültek. A vizsgálatok ideje alatt a TSH-szintek  $<0,3$  mIU/L, az FT4-értékek általában 10,29–21,88 pmol/L értéktartományon belül voltak. A műtétet követően háromhavonta, majd két év elteltével félévente határoztuk meg a szérumban Tg, TgAb, FT4- és TSH-szinteket betegenként legalább 3, legtöbbször 16 alkalommal. A szérumban Tg-koncentráció a TSH-szupprimált betegek jelentős részénél (746/774, 96%) nem haladta meg a kit által megadott 1,5–2 ng/ml küszöbértéket. A nagy érzékenységű, új generációs IRMA-mat<sup>R</sup> Thyroglobulin és a Tg-CTK kitékkel végzett Tg-meghatározások specifikitása 2 ng/ml küszöbértéknél elérte a 95%-ot.

### A szérumban Tg-meghatározás szenzitivitása

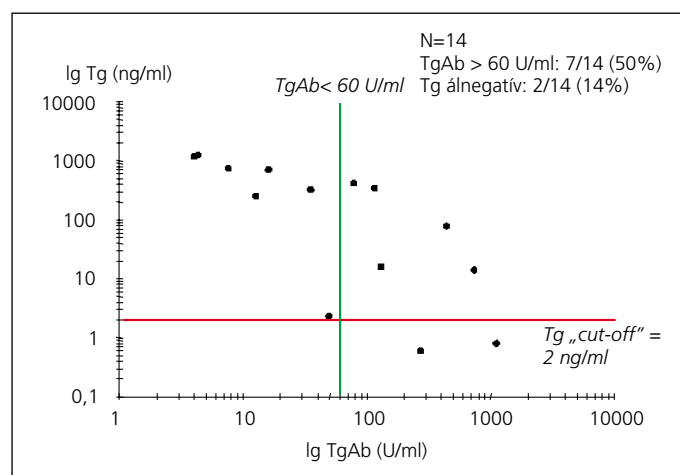
A posztoperatív követési időszakban (15–94 hónap) időszakosan és rendszeresen vizsgáltuk 77 papilla-

ris és 43 follicularis pajzsmirigyrákkal műtött, klinikailag bizonyított áttétes beteg Tg- és TgAb-értékeit. A szenzitivitás meghatározása során az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt mért átlagértékekkel számoltunk. Tapasztalataink alapján papillaris pajzsmirigy-carcinoma nyirokcsomó-metastasisai esetében magas (11/29, 38%) volt a hibásan negatív Tg-értékek száma (3. ábra), és ennek megfelelően alacsony a Tg-mérés szenzitivitása (62%). Ezzel szemben lokális recidívánál (4. ábra) és tüdőáttéteknél (5. ábra) a Tg szenzitivitása 86–97% volt. Nyirokcsomóáttét esetében is jelentősen növelhető volt a mérés szenzitivitása, ha a TgAb-pozitív betegeket (N=18) az értékelésből kihagytuk. Így mindössze 1 esetben, (1/11, 9%) mértünk hibásan alacsony Tg-szintet (3. ábra). Follicularis pajzsmirigyrákkal műtött betegek posztoperatív követése során a Tg szenzitivitása 86–100% között volt. Tüdő- (2/14, 14%) és csontáttéteknél (0/14, 0%), valamint lokális recidíva esetében (0/5, 0%) (6–8. ábrák) ritkán mértünk al-

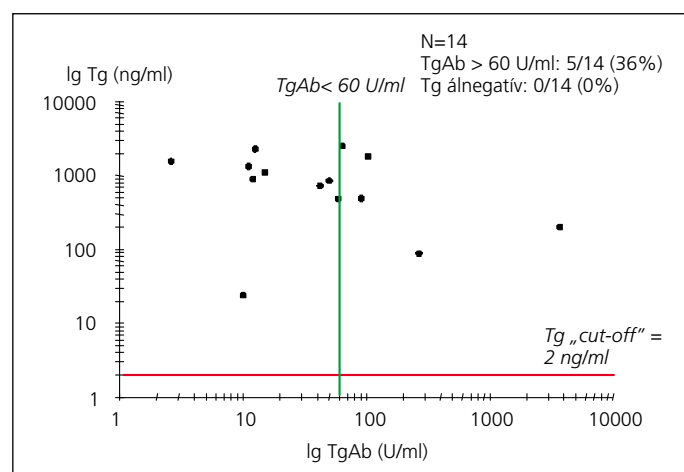
5. ábra. A szérumban Tg- és TgAb-szintek összefüggése papillaris pajzsmirigy-carcinomával műtött tüdőáttétes betegek posztoperatív követése során. Egy-egy pont az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt Tg- és TgAb-értékek átlaga



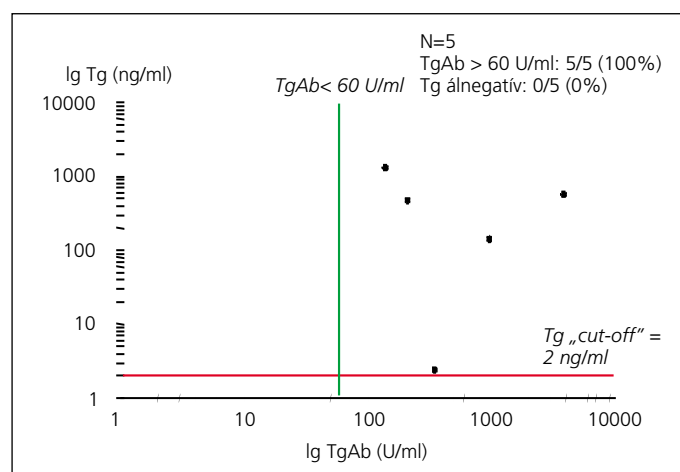
6. ábra. A szérumban Tg- és TgAb-szintek összefüggése follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött tüdőáttétes betegek posztoperatív követése során. Egy-egy pont az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt Tg- és TgAb-értékek átlaga



7. ábra. A szérumban Tg- és TgAb-szintek összefüggése follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött csontáttétes betegek posztoperatív követése során. Egy-egy pont az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt Tg- és TgAb-értékek átlaga



8. ábra. A szérumban Tg- és TgAb-szintek összefüggése lokális recidíva esetén follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött betegek posztoperatív követése során. Egy-egy pont az adott klinikai állapothoz tartozó 6–16 alkalommal ismételt Tg- és TgAb-értékek átlaga



negatív Tg-értékeket. A Tg-mérés szenzitivitásának változását a TgAb-meghatározások függvényében az 1. táblázat foglalja össze. Az irodalmi adatokkal összhangban azt tapasztaltuk, hogy a TgAb-pozitivitás ismerete jelentősen növelte a Tg-meghatározás szenzitivitását.

#### A TgAb-meghatározás klinikai-diagnosztikai értéke

Az irodalmi adatokkal összhangban 894 differenciált pajzsmirigydaganattal műtött beteg időszakos vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a szérumban a Tg-ellenes antitest a papillaris, ill. follicularis szövettani típusoknál közel azonos százalékban (95/715, 13%, illetve 19/179, 11%) mutatható ki (9–10. ábra). Méréseink alapján a TgAb megjelenése független az életkortól és gyakrabban fordul elő nőkben, mint férfiakban (nő/férfi arány = 11,2). A tumorrecidívák és áttétek megjelenésével a tumoros betegek TgAb-pozitivitása jelentősen megemelkedett. A 77 papillaris és a 43 follicularis carcinomával műtött, áttétes beteg 44%-ánál (34/77), ill. 21%-ánál (9/43) folyamatosan magas TgAb-értékeket mértünk (9–10. ábra). A 29 papillaris pajzsmirigydaganattal műtött, nyirokcsomó-áttétes betegből 18 (18/29, 62%) bizonyult TgAb-pozitívna (3. ábra) és az alacsony Tg-szintű (Tg < 2 ng/ml) nyirokcsomó-áttétes esetek 91%-ánál (10/11) mutatuk ki a Tg-ellenes antitest jelenlétét (3. ábra). A TgAb-pozitivitás a nyirokcsomó-metastasishez hasonlóan jelentős arányban, lokális recidívánál 57%-ban (4/7, 4. ábra) és tüdőáttéténél 39%-ban (12/31, 5. ábra) fordult elő. Follicularis szövettani típusnál

a lokális recidívánál 100%-ban (5/5), tüdőáttétekben 50%-ban (7/14) és csontmetastasis eseteiben 36%-ban (5/14) mértünk magas (>60 U/ml) szérumban antitest-koncentrációt (6–8. ábra). A sebészi és/vagy radiojód-kezelést követően a tünetmentes, valamint a kezelésekre jól reagáló áttétes betegek-nél a TgAb-szint idővel (12–36 hónap) csökkent (<60 U/ml). A második generációs DYNObest anti-Tg<sub>n</sub> kit alkalmazása során azt tapasztaltuk, hogy a TgAb-szint emelkedése alacsony Tg-koncentráció esetén marker értékű lehet. Ilyenkor nagy valószínűséggel nyirokcsomó-metastasis megjelenéséről, vagy tumorrecidíva kialakulásáról van szó.

#### Megbeszélés

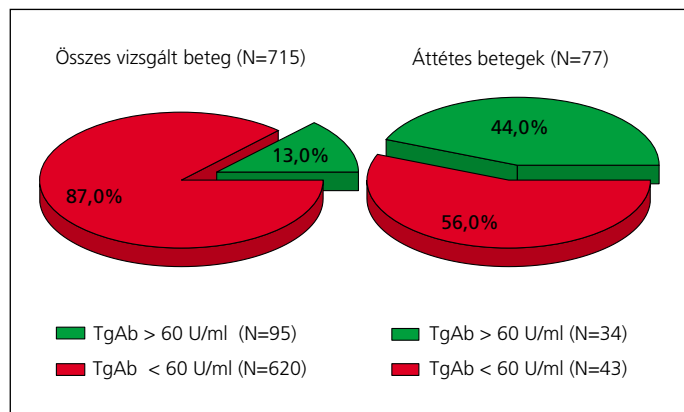
Az Országos Onkológiai Intézet a radiojód nagy dózisú terápiás alkalmazásának lehetőségével a differenciált pajzsmirigyákkal foglalkozó legnagyobb hazai központnak tekinthető. A betegek vagy az elsődleges sebészi beavatkozás után, vagy a recidíva, illetve a metastasis észlelését követően kerülnek intézetünkbe. Ez a magyarázata annak, hogy az általunk vizsgált betegcsoportokban az előrehaladottabb daganatok az átlagosnál nagyobb arányban fordulnak elő. Az Országos Onkológiai Intézetben a 80-as évek elejétől vizsgáltuk a szérumban Tg-szintet, majd ezt követően a 90-es évektől a marker-méréssel egyidejűleg TgAb-meghatározásokat is végzünk. Az elmúlt hat évben 894 szövettanilag igazolt follicularis és papillaris pajzsmirigy-carcinomával műtött beteg posztoperatív státuszának változását követtük. A szérumban Tg-, TgAb-, FT4- és TSH-szinteket rutin diagnosztikai módszereinkkel „Az Onko-

1. táblázat.  
A Tg-mérés szenzitivitásának változása az TgAb-meghatározások függvényében

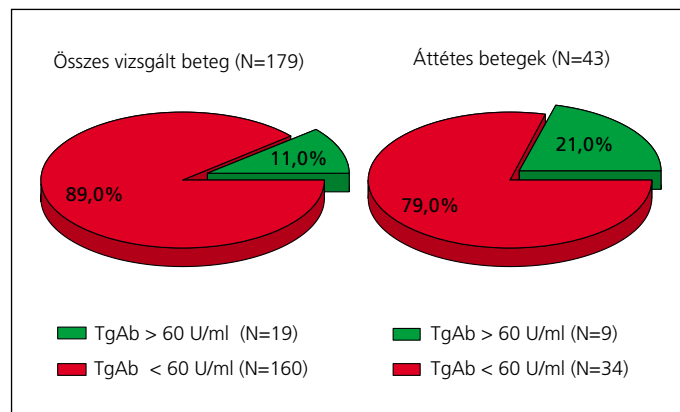
| Szövettani típus                   | Áttét            | Betegek száma | Tg-álnegatív esetszám | Tg-mérés szenzitivitása (%) | TgAb > 60U/ml esetszám | TgAb < 60 U/ml Tg-mérés szenzitivitása (%) |
|------------------------------------|------------------|---------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|--------------------------------------------|
| Papillaris pajzsmirigy-carcinoma   | nyirokcsomó      | 29            | 11                    | 62                          | 10                     | 95                                         |
|                                    | lokális recidíva | 7             | 1                     | 86                          | 4                      | 100                                        |
|                                    | tüdő             | 31            | 1                     | 97                          | 12                     | 100                                        |
| Follicularis pajzsmirigy-carcinoma | tüdő             | 14            | 2                     | 86                          | 7                      | 100                                        |
|                                    | lokális recidíva | 5             | 0                     | 100                         | 5                      | -                                          |
|                                    | csont            | 14            | 0                     | 100                         | 5                      | 100                                        |

A Tg-mérés szenzitivitása jelentősen megemelkedik, ha az TgAb>60 U/ml betegeket kihagyjuk az értékelésből

9. ábra. Papillaris pajzsmirigy-carcinomával műtött betegek posztoperatív követése során mért TgAb-értékek megoszlása



10. ábra. Follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött betegek posztoperatív követése során mért TgAb-értékek megoszlása



terápia Irányelvei" által meghatározott kezelési protokoll alapján mértük. A nemzetközileg is jelentős adatbázist az adott időpontra vonatkozó klinikai állapot ismeretében betegenként retrospektív módon elemeztük, és tanulmányoztuk a vizsgálatok diagnosztikai és prognosztikai értékét.

Az általunk vizsgált betegek átlagéletkora 50 és 60 év között volt, és nemek szerinti megoszlásában erőteljes női predominanciát mutatott. A nő/férfi arány papillaris carcinomában a pubertást követően, follicularis ráknál az 50–70 év közötti korosztálynál jelentősen megemelkedett. A nemek közötti eltérés részben hormonális okokkal magyarázható. A pajzsmirigyrák kialakulásában az ösztrogénnek és metabolitjainak jelentős szerepet tulajdonítanak (18). Ismert továbbá, hogy a menstruációs ciklus folyamán a TSH-szint és ezzel összefüggésben a pajzsmirigy aktivitása változik. Szintén a nemi hormonok szerepére utal, hogy a totális thyreoidectomiát követően a szexhormonkötő globulin koncentrációja jelentősen csökken, majd pajzsmirigyhormon-kezelés hatására normalizálódik (16).

Általában megállapítható, hogy az emelkedett szérumszint Tg-érték nem ad információt a daganatok lokalizációjára, de indikálja a beteg részletes kivizsgálását és a képalkotó diagnosztikai eljárások elvégzését.

A mérések klinikai értékelését a maradék pajzsmirigyállomány mennyisége, a TSH-szupprimált vagy -stimulált állapot (T4 „on” vagy „off”) és az alkalmazott koncentrációs küszöbérték nagymértékben befolyásolhatja. Más irodalmi adatokkal összhangban (14, 21) a szérumszint Tg specifikitása és szenzitivitása a pajzsmirigy teljes eltávolítását követően a legnagyobb, mert a tumormentes betegek 90%-ánál a Tg-koncentráció  $<1$  ng/ml. A Tg-szint változása a közel totális thyreoidectomia esetén még mindig fontos információval bír, a gyógyult esetek 62%-ánál  $<1$  ng/ml és 85%-ánál  $<5$  ng/ml Tg-értéket mértek (15). Azoknál a betegeknél, akiknél csak részleges pajzsmirigy-eltávolítás történt, az eredmények még az adekvát TSH-szuppresszió esetén is variábilisak, kevésbé specifikusak (11). A TSH-szuppresszió általában csökkenti a Tg-szintet, és előfordul, hogy a recidíva klinikai gyanúját nehéz igazolni. Ilyenkor a szuppresszió megszüntetése utáni hypothyreotikus állapotban mért, vagy rhTSH (rekombináns humán TSH) adását követő Tg-szint-meghatározás negatív prediktív értéke, nyaki ultrahangvizsgálattal kiegészítve, elérheti a 98%-ot (22). Ha a Tg-küszöbérték  $<10$  ng/ml, a szenzitivitás 84%-os és a specifikitás 100%, a küszöbérték csökkentésével („cut-off”  $<3$  ng/ml) a szenzitivitás 96%-ra emelkedik, de a specifikitás 90%-ra csökken (3). Ha a koncentrációs küszöbérték  $<1$  ng/ml, a TSH-stimulált Tg-mérés szenzitivitása elérheti a 100%-ot (3, 20). Egyes szerzők (11) csak azoknál a betegeknél javasolják a T4 terápia megvonását követő Tg-meghatározást, ahol a metastasis kialakulásának és/vagy a tumor növekedésének nagy a valószínűsége.

Az Országos Onkológiai Intézetben a vizsgálatokra általában szupprimált TSH-szint mellett kerül sor, és csak a radiojód-egésztestszcintigráfia,

valamint radiojód-terápia előtt a pajzsmirigyhormon adagolásának kellő idejű felfüggesztését követően oldható meg a TSH-stimulált (TSH nagyobb, mint 30 mU/L) Tg-szint mérése. Az rhTSH adására nem volt lehetőség, és alkalmazását a készítmény ára a későbbiekben is nehezíteni fogja.

A szövetspecifikus Tg vizsgálatát teljesen automatizált mérőműszert alkalmazva, monoklonális és poliklonális antitestet egyaránt tartalmazó, nagy érzékenységű IRMA módszerrel végeztük. Az alacsony Tg-koncentrációk (0,1–1 ng/ml között) pontos, megbízható mérése a totális thyreoidectomiát követően lehetővé tette alacsony küszöbérték (Tg  $<2$  ng/ml) kiválasztását. A TgAb-negatív betegek vizsgálata során a Tg-mérés szenzitivitása és specifikitása elérte a 96%-ot. Eredményeink az irodalmi adatokkal összhangban igazolják, hogy a radikális sebészeti beavatkozást és az adjuváns/terápiás radiojód-kezelést követően a TSH-szupprimált állapotban mért szérumszint Tg-koncentráció értékének növekedése a recidívák és a micrometastasisok megjelenésének szenzitív és specifikus markere.

Az adatok értékelésében további nehézséget jelentett a dedifferenciált, Tg-t nem, / vagy alig szekretáló metastasisok jelenléte. Irodalmi adatok szerint (2, 11, 28, 29) kisméretű nyirokcsomó-áttek még hypothyreoid körülmények között sem okoznak minden esetben Tg-emelkedést (23, 25). A TgAb jelenléte nemcsak módszertani hibából adódóan hamisítja meg a mérés értékét, de feltételezhető, hogy az antitest-antigén komplex in vivo gyors kiürülése is hozzájárul az álnegatív Tg-szint kialakulásához (27).

A TgAb-pozitivitás klinikai jelentőségét 715 papillaris és 179 follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött beteg rendszeres vizsgálatával tanulmányoztuk. A széles epitópspecifikitású TgAb kittel végzett antitestmeghatározással kapott eredményeink az irodalmi adatokkal összhangban azt mutatják, hogy a TgAb-pozitivitás ismerete jelentősen növeli a Tg-meghatározás szenzitivitását (broader-based epitope, 1, 2, 19, 25, 27–29). Klinikailag igazolt lokális recidíva, tüdő- és nyirokcsomó-áttek esetében a betegek jelentős százalékánál tartós emelkedést tapasztaltunk a Tg-ellenes antitest koncentrációjában. Cohen (3) adataival összhangban a tünetmentes, valamint a kezelésekre jól reagáló áttétes betegeknél a TgAb-szint idővel (15–22 hónap) csökkent. A TgAb-pozitív betegeknél a tumor kiújulásának valószínűsége szignifikánsan magasabb volt, mint a negatív esetekben. Tapasztalataink alapján az irodalmi adatokkal összhangban a Tg-mérések szenzitivitása nyirokcsomó-áttes betegeknél volt a legalacsonyabb (11, 27). Alacsony Tg-szint esetén a Tg-ellenes antitest szérumszint-koncentrációjának tartós emelkedése a nyirokcsomó-áttek, lokális recidívák megjelenésével hozható összefüggésbe (29).

## Következtetések

A differenciált papillaris és follicularis pajzsmirigy-carcinomával műtött 894 beteg posztoperatív követése során (15–94 hónap) háromhavonta,

majd két év elteltével félévente határoztuk meg a szérumban Tg-, TgAb-, FT4- és TSH-szinteket legalább 3 (legtöbbször 16) alkalommal. A szérumban Tg- és TgAb-meghatározások adatainak retrospektív elemzését betegeinként, a képalkotó diagnosztikai vizsgálatok eredményeit figyelembe véve végeztük el. Az általunk használt modern IRMA Tg- és RIA TgAb kitek a differenciált pajzsmirigyrák posztoperatív követése során hatékony diagnosztikai eszköznek bizonyultak. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a szérumban Tg-szint adekvát értelmezéséhez a TgAb-meghatározás javasoltan szükséges. Emelkedett vagy emelkedő szérumban Tg-értékeknél ( $>2$  ng/ml) – a klinikailag tumormentes esetekben is – indokoltnak látjuk a TSH-stimulált Tg-vizsgálatok elvégzését. A folyamatosan magas, illetve emelkedő TgAb-koncentráció az individuális betegkövetés során diagnosztikai értékkel bír, összefüggésbe hozható a papillaris/follicularis pajzsmirigyrákkal műtött betegek klinikai állapotával, a tumorrecidívák és/vagy a micrometastasisok megjelenésével. A laboratóriumi diagnosztikai és képalkotó vizsgálatok együttes alkalmazásával az áttétképződés időben jelezhető.

### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak Kazatsay Imrénének, Kovácsné Nikl Erikának, Balázs Ibojának, Édesné Boldizsár Mariannak, Kapuvári Bencének, Paulik Editnek, Gáspár Margitnak, Ötvösiné Lukács Annának és Henzné Arnóczki Erzsébetnek a mérési adatok feldolgozásában nyújtott segítségéért.

A vizsgálatokat az Országos Onkológiai Intézet támogatásával végeztük el.

### Irodalom

1. Beastall GH. Guidelines for management of thyroid cancer in adults: implications for clinical biochemistry. *Assoc Clin Biochem* 40:435-438, 2003
2. Chung JK, Park YJ, Kim TY, et al. Clinical significance of elevated level of serum antithyroglobulin antibody in patients with differentiated thyroid cancer after thyroid ablation. *Clin Endocrinol* 57:215-221, 2002
3. Cohen EG, Tuttle RM, Kraus DH. Postoperative management of differentiated thyroid cancer. *Otolaryngol Clin N Am* 36:129-157, 2003
4. Dai G, Lewy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature* 379:458-460, 1996
5. Dupuy C, Pomerance M, Ohayon R, et al. Thyroid oxidase (THOX2) gene expression in the rat thyroid cell line FRTL-5. *Biochem Biophys Res Commun* 277:287-292, 2000
6. Ésik O, Szentirmay Z, Tusnády G, et al. Malignus pajzsmirigy-tumorkok Magyarországon: morbiditás és mortalitás. *Orvosi Hetilap* 137:905-911, 1996
7. Ésik O, Tusnády G, Daubner K, et al. Survival chance in papillary thyroid cancer in Hungary. Individual survival probability estimation using the Markov method. *Radiother Oncol* 44:203-212, 1997
8. Ésik O, Balázs Cs, Boér A, et al. A papillaris pajzsmirigy-carcinoma korszerű kivizsgálása, prognózisbecslése és kezelése: az orvostudományi egyetem és az Országos Onkológiai Intézet ajánlása. *Orvosi Hetilap* 141:5-16, 2001
9. Ésik O. HORUS: A korszerű szakmai irányelvek követésével javíthatók a pajzsmirigy-rákos betegek túlélési esélyei (A pajzsmirigy-daganatokról hazai kutatóktól az elmúlt 20

évben megjelent 24 angol nyelvű közlemény áttekintése). *Orvosi Hetilap* 142:2431-2435, 2001

10. Ésik O, Bak M, Balázs Gy, et al. Pajzsmirigyrák. In: Az onkoterápia irányelvei. Ed. Kásler M. B+V (medical & technical) Lap- és Könyvkiadó Kft., 2001, pp 112-147
11. Fatourehchi V, Hay ID. Treating the patient with differentiated thyroid cancer with thyroglobulin-positive iodine-131 diagnostic scan-negative metastases: Including comments on the role of serum thyroglobulin monitoring in tumor surveillance. *Semin Nucl Med* 30:107-114, 2000
12. Fraker DL, Skarulis M, LiVolis V. Thyroid tumors. In: *Cancer-Principles and Practice of Oncology*, ed. de Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. Lippincott-Raven Publ Philadelphia-New York. 1997, pp 1629-1652
13. Gérard AC, Daumerie C, Mestdagh C, et al. Correlation between the loss of thyroglobulin iodination and the expression of thyroid-specific proteins involved in iodine metabolism in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 88:4977-4983, 2003
14. Giovannella L, Ceriani L, Garancini S. High-sensitive 2nd generation thyroglobulin immunoradiometric assay. Clinical application in differentiated thyroid cancer management. *Q J Nucl Med* 46:319-322, 2002
15. Grünwald F, Menzel C, Fimmers R, et al. Prognostic value of thyroglobulin after thyroidectomy before ablative radioiodine therapy in thyroid cancer. *J Nucl Med* 37:1962-1964, 1996
16. Hampl R, Kancheva R, Hill M, et al. Interpretation of sex hormone-binding globulin levels in thyroid disorders. *Thyroid* 13:755-760, 2003
17. Irányelvek a pajzsmirigy-rákok kivizsgálása, kezelése és követése során. *Orvosi Hetilap*, 142(45. Suppl 1):2517-2551, 2001
18. Lee HS, Kim KM, Jung BH, et al. Estrogens in female thyroid cancer: alteration of urinary profiles in pre- and post-operative cases. *Cancer Lett* 189:27-32, 2003
19. Massart C, Maugendre D. Importance of the detection method for thyroglobulin antibodies for the validity of thyroglobulin measurements in sera from patients with Graves disease. *Clin Chem* 48:102-107, 2002
20. Mazzaferri E, Kloos RT. Using recombinant human TSH in the management of well-differentiated thyroid cancer: current strategies and future directions. *Thyroid* 10:767-777, 2000
21. Morgenthaler NG, Froehlich J, Rendl J, et al. Technical evaluation of a new immunoradiometric and a new immunoluminometric assay for thyroglobulin. *Clin Chem* 48:1077-1083, 2002
22. Pacini F, Molinaro E, Castagna MG, et al. Recombinant human thyrotropin-stimulated serum thyroglobulin combined with neck ultrasonography has the highest sensitivity in monitoring differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3668-3673, 2003
23. Ronga G, Fiorentino A, Paserio E, et al. Can Iodine-131 whole-body scan be replaced by thyroglobulin measurement in the post-surgical follow-up of differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 31:1766-1771, 1990
24. Royaux IE, Suzuki K, Mori A, et al. Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome (PDS) gene, is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 141:839-845, 2000
25. Schlumberger MJ. Papillary and follicular thyroid carcinoma. *New England J Med* 338:297-306, 1998
26. Schlumberger MJ. Diagnostic follow-up of well-differentiated thyroid carcinoma: Historical perspective and current status. *J Endocrinol Invest* 22:3-7, 1999
27. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyroglobulin assays. *Clin Chem* 42:164-173, 1996
28. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, et al. Serum thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement, and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1121-1127, 1998
29. Weightman DR, Mallick UK, Fenwick JD, et al. Discordant serum thyroglobulin results generated by two classes of assay in patients with thyroid carcinoma: correlation with clinical outcome after 3 years of follow-up. *Cancer* 98:41-47, 2003