

Medicinski fakultet, Kragujevac¹
 Institut za imunologiju i virusologiju "Torlak", Beograd²

Stručni članak
Professional article
 UDK 616.441-097-073
 DOI:10.2298/MPNS1002104V

KORELACIJA KONCENTRACIJA AUTOANTITELA SPECIFIČNIH ZA TIROIDNU PEROKSIDAZU ODREĐENIH KORIŠĆENJEM DVA RADIOIMUNOLOŠKA TESTA

CORRELATION OF SERA CONCENTRATIONS OF THYROPEROXIDASE AUTOANTIBODIES MEASURED BY TWO RADIOIMMUNOASSAYS

Olgica VRNDIĆ¹, Snežana ŽIVANČEVIĆ-SIMONOVIĆ¹, Ljiljana DIMITRIJEVIĆ², Aleksandar ĐUKIĆ¹ i Nebojša ARSENIJEVIĆ¹

Sažetak - Autotitela specifična za tiroidnu peroksidazu autoantitela specifičnih za tiroidnu peroksidazu prevashodno se određuju radi dijagnoze autoimunih bolesti štitaste žlezde. Cilj rada bio je da se uporede koncentracije autoantitela specifičnih za tiroidnu peroksidazu dobijene korišćenjem dva testa: *Cis bionternational* (Francuska) i *Immunotech* (Češka Republika). Ispitivanjem je obuhvaćeno 38 ispitanika. Iako su se koncentracije autoantitela specifičnih za tiroidnu peroksidazu u ispitivanim serumima znatno razlikovale i u apsolutnim i u relativnim vrednostima, statističkom obradom rezultata pokazana je direktna korelacija rezultata merenja ova dva testa, sa koeficijentom $R=0,6239$ ($p<0,001$). Na osnovu analize relativnih vrednosti, pokazana je statistički značajna razlika ($p=0,003$) između srednjih vrednosti rezultata izmerenih testovima *Cis* ($18,94\pm 37,22$) i *Immunotech* ($4,22\pm 8,22$). Slaganje rezultata pokazano je u 78,95% seruma, dok je u 21,05% seruma testom *Immunotech* dobijena normalna, a testom *Cis bionternational* granična ili povećana koncentracija antitela. Statistički podaci su pokazali da se testovi ne razlikuju po razdvajanju patoloških od normalnih vrednosti ($\chi^2=3,484$, $p>0,05$). Iako koncentracije autoantitela specifičnih za tiroidnu peroksidazu izmerene pomoću testova *Cis bionternational* i testom *Immunotech* pokazuju značajan stepen korelacije, njihove i apsolutne i relativne vrednosti znatno se razlikuju.

Ključne reči: Tiroidna peroksidaza; Autoantitela; Radioimunološki test + statistika; Korelacija

Uvod

Tiroidni mikrozomalni antigen prvi put je identifikovan u mikrozomskoj frakciji tirocita [1], a kasnije je pokazano da je to enzim peroksidaza [2], glikozilirane proteinske strukture i molekulske težine 100 kD. Tiroidna peroksidaza (TPO) nalazi se na apikalnoj površini tiroidnih folikularnih ćelija i učestvuje u sintezi tiroidnih hormona: katalizovanjem oksidacije jodida, jodinacijom tirozinskih ostataka i međusobnim vezivanjem molekula jodtirozina u trijodtironin i tiroksin [3,4].

S obzirom na to da je TPO dobar imunogen, u autoimunom procesu koji je usmeren prema tkivu štitaste žlezde, u intratiroidnim B-limfocitima sintetisu se antitela koja prepoznaju različite epitope TPO (antiTPO At) [5]. Pokazano je da su antiTPO At uključena u ćelijama posredovane citotoksične reakcije [6,7] kojima se oštećuje tiroidno tkivo. Poseban dijagnostički značaj ima povećanje koncentracije antiTPO At kod osoba sa Hashimoto tiroiditisom ili Gravesovom bolesti, zato što se antitela lako mogu dokazati u serumu ispitanika. Povećana koncentracija antiTPO At pokazana je kod 90-100% osoba sa autoimunim Hashimoto tiroiditisom [8] u relativno visokim koncentracijama, koje se mere mikrogramima, ili čak miligramima po mililitru [9]. AntiTPO At postoje u serumu 50-90% obolelih od Gravesove bolesti smatra se da predstavljaju marker pridruženog tireoiditisa, a visok titar ovih antitela može ukazati na kasniji razvoj hipotiroze [10]. Određivanje koncentracije antiTPO At korisno je i kod starijih osoba, kao i pacijenata na

terapiji litijumom, interferonom alfa i amiodaronom [11-15].

Semikvantitativni aglutinacioni test najstariji je test kojim su detektovana "antimikrozomalna antitela" [16], ali je zbog nedovoljne osetljivosti uglavnom zamenjen imunoesejom kojim se određuje koncentracija antiTPO antitela. Iako je danas antiTPO At sinonim za antimikrozomalna antitela [17], zbog znatne razlike u senzitivnosti i specifičnosti tih testova, između njih ne može da se stavi znak jednakosti [18].

S obzirom na velike razlike u koncentracijama antiTPO At koje se različitim testovima mogu izmeriti u istim uzorcima seruma [19], cilj našeg rada bio je da se uporede koncentracije antiTPO At dobijene korišćenjem dva radioimunološka testa (engl. *radioimmuno assay*, RIA) različitih proizvođača: *Cis bionternational* (Francuska), koji se već nekoliko godina koristi u Kliničkom centru Kragujevac, i *Immunotech* (Češka Republika), koji je prvi put uveden u našoj laboratoriji.

Materijal i metode

Ispitivanjem je obuhvaćeno 38 ispitanika. Svim pacijentima je venepunkcijom uzeto 10 ml krvi i serum je izdvojen centrifugiranjem na 2000 rpm, tokom 15 minuta. Do upotrebe (ne duže od 2 nedelje) serum je čuvan na -20° C. Određena količina seruma ispitanika i tiroperoksidaze obeležene radioaktivnim jodom (125I-TPO) dodavana je u epruvete obložene monoklonskim (*Cis Bionternational*) ili poliklonskim (*Immunotech*) antiTPO antitelima.

Skraćenice

TPO	- tiroidna peroksidaza
antiTPO	- autoantitela specifična za tiroidnu peroksidazu
RIA	- radioimunološki test (<i>radioimmunoassay</i>)
Tg	- tiroglobulin

Na ovaj način omogućeno je takmičenje između fiksnih (za zid epruvete) i serumskih antiTPO At za ograničenu količinu ¹²⁵I-TPO. Koncentracije antiTPO At u ispitivanim serumima dobijene su očitavanjem izmerenog broja impulsa u gama scintilacionom brojaču sa krivulje konstruisane na osnovu standardnih koncentracija antiTPO At. Rezultati merenja koncentracije antiTPO At prikazani su kao apsolutne vrednosti (po mililitru) ili kao povećanje koncentracije u odnosu na gornje granične vrednosti koje su deklarirali sami proizvođači analiziranih testova. Za statističku obradu rezultata dobijenih u ovom radu korišćena je metoda korelacione analize (Pearsonov koeficijent korelacije), χ^2 test i U-test, izvedeni u programu SPSS 10.0, a za grafički prikaz rezultata korišćen je program *MS Excel*.

Rezultati

U radu je ispitivana koncentracija antiTPO antitela u serumu 38 ispitanika koji su upućeni u *in vitro* laboratoriju Centra za nuklearnu medicinu, KC Kragujevac, u januaru 2008. godine. Koncentracija antiTPO At određena je uporedo, korišćenjem dva komercijalna RIA testa: *Cis Biointernational* (Francuska) i *Immunotech* (Češka Republika). Karakteristike dva RIA testa, prema uputstvima proizvođača, date su u Tabeli 1.

Tabela 1. Karakteristike dva RIA testa: TPO-AB-CT (*Cis Biointernational*) i antiTPO RIA (*Immunotech*) prema uputstvu proizvođača

Table 1. The characteristics of two assays: TPO-AB-CT (*Cis Biointernational*) and antiTPO RIA (*Immunotech*) according to the manufacturers

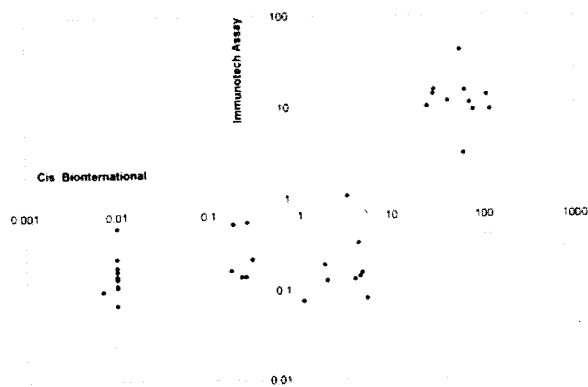
Parametri/Parameters	TPO-AB-CT (<i>Cis Biointernational</i>)	Anti-TPO RIA (<i>Immunotech</i>)
Princip testa		
<i>Principle of the assay</i>	RIA	RIA
Obeleživač/Tracer	¹²⁵ I-TPO	¹²⁵ I-TPO
Antitela/Antibodies	monoklonska <i>monoclonal</i>	poliklonska <i>polyclonal</i>
Opseg merenja/ <i>Measuring range</i>	0-10000 IU/ml	4-3000 U/ml
Referentni materijal	nije dat	
<i>Reference material</i>	<i>not done</i>	NIBSC 66/387
Detekcioni limit/ <i>Detection limit</i>	8 IU/ml	11,9 U/ml
Unutargrupna varijabilnost		
<i>Intra-assay reproducibility</i>	5,7-7,4%	≤ 9,7%
Međugrupna varijabilnost		
<i>Inter-assay reproducibility</i>	7,7-9,9%	≤ 10,0%

Pošto su vrednosti izmerene testom *Cis biointernational* izražene u internacionalnim jedinicama (IU), to govori da je test standardizovan prema internacionalnom referentnom preparatu 66/387, iako to u uputstvu proizvođača nije navedeno. I drugi, test *Immunotech*, standardizovan je prema preparatu

66/387, ali se proizvođač opredelio da vrednosti antiTPO At izrazi u jedinicama (U). S obzirom na to da postoji velika razlika u opsegu referentnih koncentracija antiTPO antitela koje su dali proizvođači dva testa, moguće je da su pri kalibraciji korišćeni različiti kalibracioni faktori, tako da između mernih jedinica (IU i U) nije moguće staviti znak jednakosti. Zato su u radu apsolutne vrednosti antiTPO At izmerene testom *Cis biointernational* izražene u IU, a testom *Immunotech* u U.

Apsolutne vrednosti koncentracija antiTPO At izmerene *Cis Biointernational* i *Immunotech* testom znatno su se razlikovale, u pojedinim uzorcima seruma i više od 10 puta (vrednosti antiTPO antitela dobijene testom *Cis Biointernational* bile su od 0,7 do 12 074 IU/ml, a testom *Immunotech* od 1,4 do 850,2 U/ml). I pored toga, statističkom obradom izmerenih koncentracija antiTPO antitela ustanovljeno je postojanje direktne korelacije između dva RIA testa, sa pozitivnim koeficijentom korelacije $r=0,6239$ ($p<0,001$).

Granice referentnog intervala preuzete su od proizvođača ispitivanih testova. Kod testa *Cis Biointernational* preporučena gornja granica referentnih vrednosti je 70 IU/ml, granične vrednosti su 70-130 IU/ml, a pozitivne vrednosti su iznad 130 IU/ml, dok je proizvođač testa *Immunotech* definisao vrednost 20 U/ml za gornju granicu referentnog intervala. Da bi rezultati dobijeni ispitivanim testovima mogli biti poređeni, izraženi su kao relativne vrednosti (količnik izmerene i gornje granične vrednosti za *Immunotech*, odnosno izmerene vrednosti i aritmetičke sredine intervala graničnih vrednosti za *Cis biointernational* (100 IU/ml)). I kada su koncentracije



Grafikon 1. Relativne vrednosti koncentracija antitela specifičnih za tiroidnu peroksidazu izmerene testovima *Cis Biointernational* i *Immunotech*, izražene kao logaritmi količnika izmerenih i gornjih graničnih vrednosti koje su deklarirali sami proizvođači analiziranih testova

Graph 1. Relative values of concentrations of thyroid peroxidase-specific autoantibodies measured by *Cis Biointernational* and *Immunotech* assay, calculated as ratio of measured and upper limit values according to the manufacturer

cije antiTPO At izražene relativnim brojevima, rezultati dobijeni korišćenjem dva upoređivana dijagnostička testa znatno su se razlikovali (Grafikon 1). U relativnim vrednostima, maksimalna koncentracija antiTPO At izmerena testom *Cis biointernational* bila je 120,74 puta, a testom *Immunotech* 42,51 puta veća od prethodno definisanih graničnih vrednosti. Na osnovu analize relativnih vrednosti, pokazana je statistički značajna razlika ($p=0,003$) između srednjih vrednosti rezultata izračunatih količnika na osnovu merenja izvedenih priborom *Cis* ($18,94\pm 37,22$) i *Immunotech* ($4,22\pm 8,22$). Veće koncentracije antitela, bilo da su izražene apsolutnim ili relativnim vrednostima, dobijene su korišćenjem testa *Cis Biointernational*.

Međutim, važno je napomenuti da je u jednom uzorku seruma testom *Cis biointernational* izmerena najveća koncentracija antiTPO At (12074 U/ml, ili vrednost 120,74 puta veća od granične), dok je u istom serumu kompletom *Immunotech* izmereno 182,5 U/ml ili 9,125 uvećanje u odnosu na gornju graničnu vrednost. Testom *Immunotech* najveća koncentracija antiTPO At (850,2 U/ml ili povećanje 42,51 puta) izmerena je u drugom serumu, u kome je testom *Cis biointernational* dobijena vrednost 5694 IU/ml, ili relativno povećanje 56,94 puta.

S obzirom na to da se u ustaljenoj kliničkoj praksi laboratorijski rezultati tumače imajući u vidu izmerenu koncentraciju i opseg referentnih vrednosti, dobijeni rezultati su prikazani kao "normalni" i "povišeni" (Grafikon 2). Tako je testom *Cis biointernational* u 20 uzoraka seruma detektovana povećana koncentracija antiTPO At, a u 18 uzoraka koncentracija antiTPO At bila je u granici referentnih vrednosti. Testom *Immunotech* pokazano je da je povećana koncentracija antiTPO At prisutna je u 12, a normalna u 26 seruma. Prema tome, slaganje rezultata (u oba testa povećane ili u oba testa normalne koncentracije antiTPO At) pokazano je u 30 seruma (78,95%), dok je u 8 (21,05%) seruma testom *Immunotech* dobijena normalna, a testom *Cis*

biointernational granična (107 U/ml) ili povećana koncentracija antiTPO At (182-534 U/ml). Statističkom obradom rezultata pokazano je da se testovi ne razlikuju po razdvajanju patoloških od normalnih vrednosti ($\chi^2=3,484$, $p>0,05$). Koncentracije antiTPO At kod osam pacijenata kod kojih je utvrđeno neslaganje dobijenih rezultata (povećana koncentracija antitela testom *Cis biointernational* i normalna testom *Immunotech*) prikazane su u Tabeli 2. Zapaža se da su sve koncentracije antiTPO At u testu *Cis biointernational* blago povećane (najviša neznatno preko 500 IU/ml), a u testu *Immunotech* nisko normalne (do 6,5 U/ml). Ovi rezultati su zbog kliničkog značaja izdvojeni u posebnu podgrupu.

Tabela 2. Koncentracije autoantitela izmerene testovima *Cis biointernational* i *Immunotech*

Table 2. Concentrations of autoantibodies measured by *Cis biointernational* and *Immunotech* assays

Serum Sera	<i>Cis Biointernational</i>		<i>Immunotech</i>	
	Koncentracija Concentration (IU/ml)	Povećanje Increase* (puta/times)	Koncentracija Concentration (U/ml)	Povećanje Increase* (puta/times)
1	389	3,89	2,6	0,13
2	443	4,43	2,8	0,14
3	429	4,29	6,5	0,325
4	464	4,64	3,1	0,155
5	534	5,34	1,6	0,08
6	182	1,82	3,8	0,19
7	192	1,92	2,5	0,125

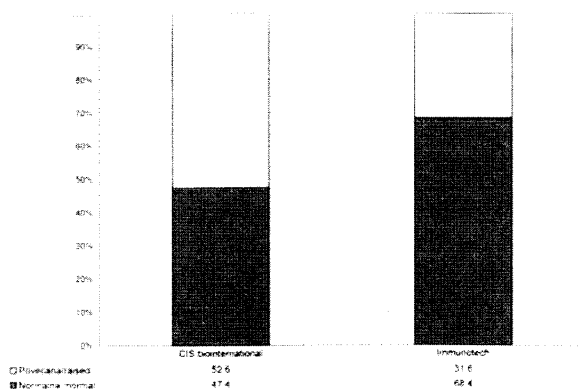
* Povećanje u odnosu na gornju graničnu vrednost antitela specifičnih za tiroidnu peroksidazu kod zdravih osoba (prema proizvođaču)

*Increase in relation to the upper limit value of thyroid peroxidase-specific autoantibodies in healthy persons (according to manufacturer)

Diskusija

U grupi ispitivanih pacijenata prethodno nije izvršena selekcija pacijenata sa autoimunim bolestima štitaste žlezde, tako da je ovakav uzorak omogućio upoređivanje dva testa u opsegu niskih i veoma visokih koncentracija antiTPO At.

Merenje antiTPO autoantitela ima nisku specifičnost zbog postojanja interferirajućih faktora, kao što je prisustvo tiroglobulina (Tg) u prečišćenim mikrozomima [16,19] ili drugih autoantitela koja mogu reagovati sa mikrozomskom frakcijom [19, 20]. Uticaj interferirajućih faktora u najvećoj meri neutrališe se korišćenjem izolovane TPO umesto mikrozoma. Međutim, i u testovima u kojima se umesto mikrozomske frakcije koriste izolovani preparati TPO, razlike u izmerenim koncentracijama antitela mogu nastati zbog heterogenosti antiTPO At, prisutnosti nekoliko domena sa različitim epitopima u molekulu TPO, različite čistoće izolovanih preparata TPO (prečišćena svinjska, humana ili rekombinantna TPO), nezadovoljavajuće standardizacije testova (korišćenje različitih referentnih preparata, zastarela i nepouzdana standardizacija referentnih kalibratora) ili postojanja metodoloških razlika između pojedinih testova [21].



Grafikon 2. Poređenje rezultata dobijenih testovima *Cis biointernational* i *Immunotech* ($\chi^2=3,484$, $p>0,05$)

Graph 2. Comparison of results obtained by *Cis biointernational* and *Immunotech* assays ($\chi^2=3,484$, $p>0,05$)

Prema podacima iz literature, koeficijent korelacije antiTPO At izmerenih različitim testovima iznosi od 0,65 do 0,87 [19]. U našem radu koeficijent korelacije je nešto niži od prethodno opisanih i iznosi 0,624. Velike razlike u apsolutnim vrednostima antiTPO At koje su izmerene u našem radu mogle bi biti posledica različite specifičnosti antitela za koja se opredelio proizvođač (u testu *Cis biointernational* za zid epruvete vezana su monoklonska, a u *Immunotech* poliklonska antiTPO At). Time bi se mogle objasniti ne samo razlike u apsolutnim vrednostima (koje su se mogle očekivati, s obzirom na preporučenu graničnu vrednost antiTPO At dva proizvođača) nego i nalaz da najveća koncentracija antiTPO At dobijena jednim, nije potvrđena drugim testom. Naime, poliklonska antiTPO antitela vezana za zid epruvete u testu *Immunotech* mogla bi se vezivati za različite epitope u odnosu na monoklonska antitela u testu *Cis biointernational*, a to bi konačno moglo uticati na izmeren rezultat, ako se ima u vidu da i autoantitela u ispitivanim serumima mogu sadržati antiTPO At različitih epitopskih specifičnosti [5].

Iako postoje velike razlike u apsolutnim vrednostima, kao i u relativnom odnosu izmerenih koncentracija antitela u odnosu na gornje granične vrednosti koje su deklarirali sami proizvođači analiziranih testova, kod 30 (ili skoro 80%) ispitanika, normalne ili povećane koncentracije antiTPO At dobijene jednim, potvrđene su i drugim testom. To nedvosmisleno govori da će na osnovu takvog nalaza, uz uvažavanje rezultata kliničkog i ultrazvučnog pregleda pacijenta, moći da se postavi dijagnoza autoimune bolesti štitaste žlezde.

Podaci iz literature ilustruju da velika varijabilnost koncentracija antiTPO At, koje su izmerene različitim dijagnostičkim testovima, onemogućava poređenje izmerenih brojevanih vrednosti [16,19,23]. I naši rezultati bi išli u prilog toj tvrdnji, što praktično znači da se apsolutne vrednosti (za istog ili različite ispitanike) izmerene testom *Cis biointernational* ne mogu porediti sa vrednostima dobijenim testom *Immunotech*. Određivanje koncentracije antiTPO At neophodno je samo za potvrdu autoimune prirode bolesti štitaste žlezde, pre svega Hashimoto tiroiditisa. Iako promene koncentracije antiTPO At mogu da budu odraz aktivnosti bolesti,

serijska merenja nivoa antiTPO At uglavnom se ne preporučuju [23]. Lekovi koji se primenjuju u terapiji autoimunih bolesti štitaste žlezde prvenstveno deluju na posledice (poremećaj tiroidne funkcije), a ne kauzalno (na autoimuni proces).

Dok visoka koncentracija antiTPO At potvrđuje autoimunu prirodu bolesti i omogućava otkrivanje bolesti u prekliničkom periodu [24,25], do sada nije utvrđen značaj niskih koncentracija tih antitela, posebno ako je funkcija štitaste žlezde normalna. Najvažniji razlog za to je različita senzitivnost i specifičnost testova koji se koriste za detekciju antitela, na osnovu kojih se procenjuje prevalencija antiTPO At u ispitivanoj populaciji [26]. Iako to izgleda paradoksalno, najosetljiviji eseji za detekciju antiTPO At nekad nisu i najkorisniji, budući da postoji obrnut odnos senzitivnosti i specifičnosti testa. Razlike u koncentraciji antiTPO At kod 8 ispitanika, koje su izmerene u našem radu korišćenjem dva RIA testa, mogle bi da budu posledica manje senzitivnosti testa *Immunotech*, ili nedovoljne specifičnosti testa *Cis biointernational*. Po pravilu, testovi koji imaju veću osetljivost mogu pokazati postojanje niskih koncentracija antiTPO At i kod nekih zdravih ispitanika [27]. Tek na osnovu višegodišnjeg praćenja pacijenata i ponovljenih određivanja koncentracije antiTPO At moglo bi da se utvrdi da li su blago povećane koncentracije antiTPO At detektovane testom *Cis biointernational* rani indikator razvoja autoimune bolesti štitaste žlezde ili nespecifičan nalaz.

Zaključak

I apsolutne i relativne koncentracije antiTPO At izmerene testovima *Cis biointernational* i *Immunotech* pokazuju statistički signifikantan stepen korelacije. Međutim, kod značajnog procenta ispitanika testom *Cis biointernational* detektuju se vrednosti u opsegu povišenih, a testom *Immunotech* koncentracije autoantitela u opsegu graničnih vrednosti referentnih intervala preporučenih od proizvođača. Pored toga, najveća koncentracija antitela pokazana jednim, nije i najveća vrednost dobijena drugim testom. Ova činjenica sugerise interpretaciju rezultata u kontekstu celokupne kliničke slike, posebno ako su oni na granici referentnih vrednosti.

Literatura

- Mariotti S, Pinchera A, Marcocci C, Vitti P, Urbano C, Chiovato L, et al. Solubilization of human thyroid microsomal antigen. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;48:207-12.
- Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, Carayon P, Lissitzsky S. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. *FEBS Lett* 1985;190:147-52.
- De Groot LJ, Niepomniszcze H. Biosynthesis of thyroid hormone: basic and clinical aspect. *Metabolism* 1997;26:665-718.
- McLachlan SM, Rapoport B. The molecular biology of thyroid peroxidase: cloning, expression and role as auto-

antigen in autoimmune thyroid disease. *Endocr Rev* 1992;13:192-206.

- McLachlan SM, McGregor A, Rees Smith B, Hall R. Thyroid-autoantibody synthesis by Hashimoto thyroid lymphocytes. *Lancet* 1979;1:162-3.

- Sinclair D. Clinical and laboratory aspects of thyroid autoantibodies. *Ann Clin Biochem* 2006;43(3):178-83.

- Blanchin S, Estienne V, Durand-Gorde JM, Carayon P, Ruf J. Complement activation by direct C4 binding to thyroperoxidase in Hashimoto's thyroiditis. *Endocrinology* 2003;144:5422-9.

8. Zöphel K, Grüning T, Wunderlich G, Franke WG. Clinical value of a bispecific antibody binding to thyroglobulin and thyroperoxidase (TGPO-aAb) in various thyroid disease. *Autoimmunity* 1999;29:257-62.
9. Rapoport B, McLachlan SM. Thyroid autoimmunity. *J Clin Invest* 2001;108:1253-9.
10. Čaparević Z, Bojković G, Stojanović D, Ilić V. Dislipidemija u subkliničkom hipotiroidizmu. *Med Pregl* 2003;56(5-6):276-80.
11. Nohr SB, Jørgensen A, Pedersen KM, Laurberg P. Postpartum thyroid dysfunction in pregnant thyroid peroxidase antibody-positive women living in an area with mild to moderate iodine deficiency: is iodine supplementation safe? *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3191-8.
12. Diez JJ. Hypothyroidism in patients older than 55 years: an analysis of the etiology and assessment of effectiveness of therapy. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002;57:315-20.
13. Johnston AM, Eagles JM. Lithium-associated clinical hypothyroidism. Prevalence and risk factors. *Br J Psychiatry* 1999;175:336-9.
14. Bell TM, Bansal AS, Shorthouse C, et al. Low titre autoantibodies predict autoimmune disease during interferon alpha treatment of chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:419-22.
15. Martino E, Bartalena L, Bogazzi F, Braverman LE. The effects of Amiodarone on the thyroid. *Endocr Rev* 2001;22:240-54.
16. Charde T, Chapal N, Bresson D, et al. The human anti-thyroid peroxidase autoantibody repertoire in Grave's and Hashimoto's autoimmune thyroid diseases. *Immunogenetics*. 2002; 54(3):141-57.
17. Lukinac Lj, Krilic D, Nöthig-Hus D, Kusić Z. The problem of thyroid antibodies testing. *Acta Clin Croat* 2004;43:355-9.
18. Živančević-Simonović S, Đukić A, Matović M, Dimitrijević Lj. Autoimunske bolesti štitaste žlezde: in vitro dijagnostika. *Medicus* 2003;4(2):23-30.
19. Squire RC. Methods for the investigation of thyroid function. In: Wheeler M, Hutchinson SJ. eds. *Hormone assays in biological fluids*. totowa: humana press; 2006:324:91-108.
20. Feldt-Rasmussen U, Hoier-Madsen M, Bech K, Blichert-Toft M, Bliddal H, Date J, et al. Anti-thyroid peroxidase antibodies in thyroid disorders and non-thyroid autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991;9:245-53.
21. Dietlein M, Dressler J, Grunwald F, Joseph K, Leisner B, Moser E, et al. Guideline for in vivo- and in vitro procedures for thyroid diseases (version 2). *Nuklearmedizin* 2003;42:109-15.
22. D'Herbomez M, Sapin R, Gasser F, et al. Concordance of eight kits for antithyroid peroxidase autoantibodies determination. *Clin Chem Lab* 2000;38(6):561-6.
23. Schmidt M, Voell M, Rahlff I, et al. Follow-up of antithyroid peroxidase antibodies in patients with chronic autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis) treated with levothyroxine. *Thyroid* 2008;18(7):755-60.
24. Lernmark Å. Series Introduction: autoimmune diseases: are markers ready for prediction? *J Clin Invest* 2001;108:1091-6.
25. Chiovato L, Latrofa F, Braverman LE, Pacini F, Capezzone M, Masserini L, et al. Dissappearance of humoral thyroid autoimmunity after complete removal of thyroid antigens. *Ann Intern Med* 2003;139:346-51.
26. Hollowell JG, Stachling NW, Hannon WH, Flanders WD, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum thyrotropin, thyroxine, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:489-99.
27. Spencer CA, Wang C, Fatemi S, Takeuchi M, Kazaryan M. Serum Thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1121-7.

Summary

Introduction

Thyroid peroxidase-specific autoantibodies (TPO Abs) are mostly measured in patients with autoimmune thyroid diseases. The aim of this study was to compare TPO Ab concentrations measured by two radioimmunoassays.

Material and methods

Our investigation included 38 patients. Sera concentrations of TPO Abs were measured by using Cis biointernational (France) and Immunotech (Czech Republic) assays.

Results

Concentrations obtained by two assays were extensively different. The values measured by Cis biointernational assay were higher than ones obtained by Immunotech assay. The statistical arrangement of results showed the direct correlation between the two assays, with the coefficient of agreement $R=0.6239$ ($p<0.001$). The analysis of relative values (ratio of measured and upper limit values given by the manufacturer) demonstrated the statistically significant difference ($p=0.003$) between values measured by Cis biointernational (18.94 ± 37.22) and by

Immunotech assay (4.22 ± 8.22) concerning the distinction between normal and raised concentrations of TPO Abs. The agreement of results (enhanced or normal TPO Ab concentrations in both tests) was shown in 30 sera samples (78.95%), but in residual 8 sera (21.05%) normal TPO Ab concentrations were obtained by Immunotech, and enhanced by Cis biointernational assay. There is no difference in capability of distinction between normal and pathological results between the two tests ($\chi^2=3.484$, $p>0.05$). The highest concentration of TPO Ab measured by Cis biointernational assay was not the highest one in Immunotech assay, which might be a reflection of different specificity of antibodies used in two diagnostic tests.

Conclusion

TPO Ab concentrations obtained by Cis biointernational and Immunotech assays are very different. In several sera samples, normal concentrations of TPO autoantibodies were obtained by Immunotech assay and enhanced by Cis biointernational assay. The highest value obtained by one is not the highest value measured by another assay we used.

Key words: Iodide Peroxidase; Autoantibodies; Radioimmunoassay + statistics and numerical data: Statistics as Topic

Rad je primljen 22. VI 2008.

Prihvaćen za štampu 28. X 2008.

BIBLID.0025-8105:(2009):LXII:1-2:104-108.