

STANDARD PER LA DETERMINAZIONE DELLA TIREOGLOBULINA (Tg) E DEGLI ANTICORPI ANTI Tg

Il 10 ottobre 2008 si è svolto nell'ambito del 8° Congresso Nazionale AME- 4° Meeting congiunto con AACE un Workshop nel quale 2 chairmen e 4 discussant che rappresentavano la clinica ed il laboratorio hanno lavorato insieme a 80 endocrinologi sul tema della determinazione della Tireoglobulina. Prima del workshop sul portale dell'AME è stato messo a disposizione un contratto d'aula per guidare il lavoro di discussant e partecipanti. Viene ora messa a disposizione dei colleghi la sintesi del lavoro di quella mattina.

PREMESSE E CONTESTO CLINICO

Il marker oncologico ideale deve presentare precise caratteristiche: elevata sensibilità, elevata specificità ed elevata riproducibilità tra i diversi metodi e nei diversi laboratori. La tireoglobulina sierica (Tg), in quanto tessuto-specifico, rappresenta il marker più sensibile e specifico di presenza di malattia in pazienti precedentemente sottoposti ad ablazione tiroidea chirurgica e radiometabolica per carcinoma tiroideo differenziato.

La presenza di anticorpi anti-tireoglobulina (AbTg) può determinare una notevole interferenza nel dosaggio della tireoglobulina (Tg). In base al metodo di dosaggio della Tg, infatti, possiamo avere una sua sottostima (metodi IMA), con conseguente rischio di ritardata diagnosi e terapia della malattia residua o recidiva, o una sua sovrastima (metodi RIA, sempre meno usati), che può indurre l'effettuazione di indagini e/o terapie non necessarie.

Anche se livelli elevati di Tg rilevati con metodo IMA in presenza di AbTg sono molto suggestivi per malattia residua o recidiva, non è possibile assumere una soglia sicura di non interferenza degli AbTg per il dosaggio di Tg. Infatti, anche bassi livelli di anticorpi possono esercitare un effetto interferente. Questo riveste una notevole importanza nella pratica clinica poichè la prevalenza di positività dei TgAb è significativamente più elevata nei pazienti (Pt) con pregresso carcinoma differenziato tiroideo (CTD): 20-25% rispetto al 10% circa della popolazione generale.

Alcuni autori propongono di misurare gli AbTg alla prima valutazione post-terapia in tutti i pazienti. Successivamente, nei Pt a basso rischio di recidiva dovrebbero essere nuovamente determinati solo se risultati positivi mentre nei Pt ad elevato rischio dovrebbero esserlo sempre. Altri Autori raccomandano, invece, di misurare gli AbTg in tutti i campioni e possibilmente con metodo IMA. In realtà, il monitoraggio seriato dell'andamento dei livelli di Tg e AbTg risulta essere più indicativo dello stato di malattia rispetto alla singola determinazione di essi.

Il dosaggio di Tg dopo stimolo con TSH ricombinante (rhTSH), associato alla

ecografia del collo, è il cardine del follow-up dei pazienti con CTD a basso rischio. Tuttavia, in presenza di AbTg positivi lo stimolo con rhTSH non supera il problema dell'interferenza di AbTg, e pertanto dobbiamo modificare la strategia diagnostica. Per tali pazienti il follow-up deve ricorrere alla scintigrafia diagnostica con ¹³¹I (oltre alla ecografia del collo) e, nel sospetto di metastasi a distanza, ad altre indagini diagnostiche (TC, RMN, scintigrafia ossea, ¹⁸F-FDG-PET).

Non pare esservi una maggiore frequenza di Ab-Tg nei Pt con CTD metastatico rispetto ai Pt con rilevazione del solo residuo ghiandolare alla prima valutazione post-ablazione con ¹³¹I.

La persistenza di AbTg senza evidenza di malattia residua o recidiva può essere dovuta a:

- presenza di piccola quantità di tessuto tiroideo residuo
- malattia autoimmune preesistente
- memoria linfocitaria (alcune cellule mantengono la capacità di produrre anticorpi per periodi prolungati)

ma va sempre considerata la possibile presenza di microfoci di malattia residua o di micrometastasi non rilevabili dalle tecniche di imaging disponibili: si rende pertanto necessaria un'attenta sorveglianza di questi pazienti.

Chiovato et al hanno osservato un tempo mediano di 3 anni (range 1.9-4.1) per la negativizzazione nei CTD in remissione completa. In genere i livelli di AbTg si riducono al 50% del valore iniziale nei primi 6 mesi dopo il trattamento chirurgico e la progressiva riduzione del titolo anticorpale sino alla sua scomparsa è un indice di successo terapeutico. Non vi sono evidenze che vi sia una differenza significativa nel tempo di scomparsa degli anticorpi nei Pt con preesistenti malattie tiroidee autoimmuni e in quelli con sola tiroidite focale. Nei 6 mesi dopo la terapia radiometabolica la concentrazione anticorpale può subire un incremento secondario alla distruzione tessutale.

I pazienti con malattia residua o recidiva mantengono livelli anticorpali elevati o in incremento: in presenza di Tg indosabile la ripositivizzazione degli anticorpi assume un significato di marcatore neoplastico, soprattutto se la determinazione è stata effettuata con lo stesso metodo e preferibilmente nello stesso laboratorio.

Il dosaggio della Tg presenta alcune limitazioni importanti: interferenza da parte di anticorpi eterofili, bias intra-metodo, sensibilità funzionale. Nel corso degli ultimi anni sono divenuti disponibili in commercio kit caratterizzati da una elevata sensibilità funzionale, in grado di determinare con elevata accuratezza e riproducibilità valori molto bassi di Tg. L'introduzione di questi kit è recente ma alcuni lavori mostrano come il loro utilizzo, sia in corso di terapia soppressiva che dopo stimolo con rhTSH, possa avere un notevole impatto nel management dei CTD.

L'uso di un dosaggio ultrasensibile di Tg in corso di terapia soppressiva è in grado

di indicare precocemente una recidiva della malattia (con elevato valore predittivo negativo), anche se determina un aumento dei cosiddetti “malati biochimici”, cioè pazienti con valori di Tg dosabili in assenza di evidenza di malattia. Il dosaggio ultrasensibile rende però possibile valutare il trend dei valori di Tg, consentendo in questa delicata categoria di pazienti un approccio sorvegliato nel tempo.

La letteratura mostra che il dosaggio ultrasensibile della Tg in corso di test con rhTSH può consentire di evitare l'uso del Whole Body Scan, che può essere ristretto ai soli pazienti a rischio elevato o che abbiano mostrato valori di Tg dosabili in assenza di evidenza di malattia in un precedente test con rhTSH. La prevalenza di recidiva di malattia è segnalata come notevolmente diversa a seconda dei valori di Tg ad alta sensibilità registrati in corso di terapia soppressiva: 2.5% nei pazienti con Tg <0.1 ng/ml, 24.2% nei pazienti con Tg 0.1-0.5 ng/ml e 82.4% nei pazienti con Tg 0.5-2.0 ng/ml. Questi risultati indicherebbero che il follow-up dei pazienti a basso rischio e con Tg <0.1 ng/ml in corso di terapia soppressiva, può basarsi nel tempo sul dosaggio della Tg in corso di LT4 e sull'ecografia del collo. Il dosaggio di Tg ultrasensibile in corso di test con rhTSH rende ovviamente ancora più accurato il management dei pazienti.

TG: WHAT, WHY, WHEN, HOW, WHO- IL PUNTO DI VISTA DEL LABORATORIO

Tg- WHAT:

Cosa si intende per sensibilità analitica e funzionale di un dosaggio?

1. La sensibilità analitica di un metodo è definita come la minima concentrazione di analita che può essere distinta da zero (calcolata di solito come il valore che corrisponde a 2 o 3 deviazioni standard di 20 replicati del punto 0 della curva di calibrazione, rappresentato da un 'siero free', cioè privo dell'analita da dosare).
2. La sensibilità funzionale rappresenta il valore minimo che può essere misurato in modo affidabile da un metodo, ed è calcolata con il profilo di imprecisione: essa costituisce il valore di concentrazione che può essere misurato con un coefficiente di variazione prefissato, che per i saggi immunometrici in genere è costituito dal 20%.

Ci sono evidenze che il metodo di dosaggio ultrasensibile di ultima generazione assicuri prestazioni diagnostiche superiori a quella dei metodi di vecchia generazione?

Le evidenze attuali dimostrano che l'impiego di metodi ad alta sensibilità (inferiore a 1 ng/mL) può consentire il monitoraggio del DTC evitando, in una grande percentuale di casi, la stimolazione periodica del TSH.

È possibile ipotizzare un unico intervallo di riferimento o cut-off per la Tg basale e dopo stimolo indipendentemente dai metodi?

Non è possibile ipotizzare un intervallo di riferimento; allo stato attuale un cut-off unico è previsto per la rhTSH-Tg (1 ng/mL in Europa; 2 ng/mL negli US), ma tale valore è inficiato da numerosi bias metodologici.

Il cut-off in soppressione dovrebbe idealmente corrispondere alla sensibilità funzionale, variabile a seconda dei metodi. Potrebbe tuttavia essere assunto un valore di cut-off inferiore a 0.1 ng/mL.

Tg-WHY:

Ci sono evidenze che la Tg possa e debba essere misurata solo nel follow-up del carcinoma differenziato della tiroide?

A parte alcuni casi particolari (ipotiroidismo congenito, tireotossicosi factitia "sensu stricto"), il dosaggio della Tg deve essere ristretto al monitoraggio del DTC.

Tg-WHEN:

Ci sono evidenze circa la possibilità di interpretare i risultati quando non sono misurati gli AbTg?

I risultati di Tg non possono essere interpretati correttamente in presenza di AbTg, dato che tutti i metodi immunometrici automatizzati correnti in genere sottostimano la Tg in presenza di concentrazioni anche minime di AbTg. I metodi IRMA (ormai poco utilizzati) sono meno sensibili all'interferenza, ma non ne sono completamente immuni. La presenza di questo tipo di autoanticorpi va rilevata non con test di recupero (in genere non molto sensibile) ma con il dosaggio quantitativo di AbTg, utilizzando metodi ad alta sensibilità (1 UI/mL). Il dosaggio degli AbTg va eseguito contestualmente al dosaggio di Tg in tutti i casi di pazienti DTC.

Nel caso di pazienti con AbTg positività, il dosaggio di AbTg può rappresentare un marker surrogato. Gli AbTg vanno monitorati nel tempo; il periodo di scomparsa è in genere attorno a 6 mesi.

Tg-HOW:

Quale è il formato ottimale del referto?

Il formato ottimale del referto deve prevedere le unità di misura e la sensibilità funzionale, che rappresenta il cut-off del metodo utilizzato. Il cut-off in corso di terapia soppressiva e dopo stimolazione con TSH e l'intervallo di riferimento non dovrebbero essere necessari. Vanno inserite informazioni accessorie, quale un commento nel caso di presenza di AbTg: i risultati di Tg vanno interpretati con cautela per la possibile interferenza degli AbTg.

Tg-WHO:

Tutti i laboratori possono e devono misurare la Tg?

La centralizzazione in un unico laboratorio per azienda sanitaria/ospedaliera o in 3-5 laboratori per regione risulta necessaria: il monitoraggio di Tg e TgAb di un paziente deve riferirsi a risultati forniti dallo stesso laboratorio nel tempo.

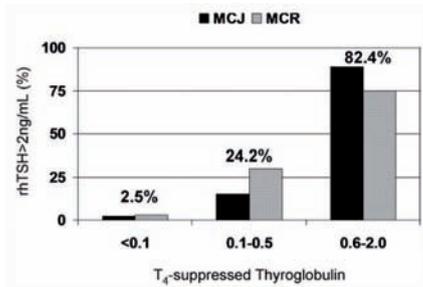
Bibliografia

1. Spencer CA, LoPresti JS. Technology insight: measuring thyroglobulin and thyroglobulin autoantibody in patients with differentiated thyroid cancer. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4:223-33.
2. Spencer CA, Bergoglio LM, Kazarosyan M, Fatemi S, LoPresti JS. Clinical impact of thyroglobulin (Tg) and Tg autoantibody method differences on the management of patients with differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5566-75.
3. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, et al. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis of thyroid disease. *Thyroid* 2003;13:3-126.
4. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The American Thyroid Association Guidelines Taskforce. *Thyroid* 2006;16:109-42.
5. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisie R, Smit JW, Wiersinga W. European Thyroid Cancer Taskforce. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur J Endocrinol* 2006;154:787-803.
6. AACE/AME Task Force on Thyroid Nodules. American Association of Clinical Endocrinologists and Associazione Medici Endocrinologi medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocr Pract* 2006; 12:63-102.
7. Ross HA, Netea-Maier RT, Schakenraad E, Bravenboer B, Hermus AR, Sweep FC. Assay bias may invalidate decision limits and affect comparability of serum thyroglobulin assay methods: an approach to reduce interpretation differences. *Clin Chim Acta* 2008; 394:104-9.
8. The American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2006; 19:109-42.
9. Schlumberger M, Hitzel A, Toubert ME, Corone C, Troalen, Schlageter MH, et al. Comparison of seven serum thyroglobulin assays in the follow-up of papillary and follicular thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2487-95.
10. Giovanella Ceriani L, Ghelfo A, Keller F. Thyroglobulin assay 4 weeks after thyroidectomy predicts outcome in low-risk papillary thyroid carcinoma. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:843-47.
11. Smallridge RC, Meek SE, Morgan MA, Gates GS, Fox TP, Grebe S, et al. Monitoring thyroglobulin in a sensitive immunoassay has comparable sensitivity to recombinant human tsh-stimulated thyroglobulin in follow-up of thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:82-7.
12. Giovanella, Ceriani L, Ghelfo A, Keller F, Sacchi A, Maffioli M et al. Thyroglobulin assay during thyroxine treatment in low-risk differentiated thyroid cancer management: comparison with recombinant human thyrotropin-stimulated assay and imaging procedures. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:648-52.
13. Spencer CA, Bergoglio LM, Kazarosyan M, Fatemi S, LoPresti JS. Clinical impact of thyroglobulin (Tg) and Tg autoantibody method differences on the management of patients with differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5566-75.
14. Görges R, Maniecki M, Jentzen W, Sheu SN, Mann K, Bockisch A, et al. Development and clinical impact of thyroglobulin antibodies in patients with differentiated thyroid carcinoma during the first 3 years after thyroidectomy. *Eur J Endocrinol* 2005;153:49-55.
15. Chiovato L, Latrofa F, Braverman LE, Pacini F, Capezzone M, Masserini L, et al. Disappearance of humoral thyroid autoimmunity after complete removal of thyroid antigens. *Ann Intern Med* 2003;139:346-51.
16. Chung JK, Park YJ, Kim TY, So Y, Kim SK, Park DJ et al. Clinical significance of elevated level of serum antithyroglobulin antibody in patients with differentiated thyroid cancer after thyroid ablation. *Clin Endocrinol* 2002;57:215-21.

Fig.1. Vantaggi e svantaggi della determinazione della Tg con metodo ultrasensibile

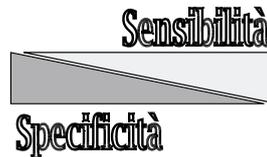
Monitoring Thyroglobulin in a Sensitive Immunoassay Has Comparable Sensitivity to Recombinant Human TSH-Stimulated Thyroglobulin in Follow-Up of Thyroid Cancer Patients

Robert C. Smallridge, Shon E. Moak, Melissa A. Morgan, Geoffrey S. Gates, Thomas P. Fox, Stefan Grewin, and Valeri Fatoumehi
Division of Endocrinology and Metabolism (R.C.S., S.E.M., M.A.M., G.S.G., T.P.F.), Mayo Clinic College of Medicine, Jacksonville, Florida 32224, and Department of Laboratory Medicine and Pathology (S.G.) and Division of Endocrinology (V.F.), Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, Minnesota 55905



- I pazienti con onT4-Tg <0.1 ng/ml:
- raramente hanno rhTSH-Tg >2.0 ng/ml
 - non hanno mai WBS positivo

Con l'aumento della sensibilità funzionale:



L'uso di un dosaggio ultrasensibile di Tg nel FU del Carcinoma Differenziato Tiroideo:

1. può indicare precocemente la recidiva/persistenza di malattia
2. rende non necessario l'uso routinario del WBS
3. determina un aumento dei "malati biochimici", ma consente lo studio del trend dei valori di Tg
4. consente un'accurata eleggibilità dei pazienti al test con rhTSH

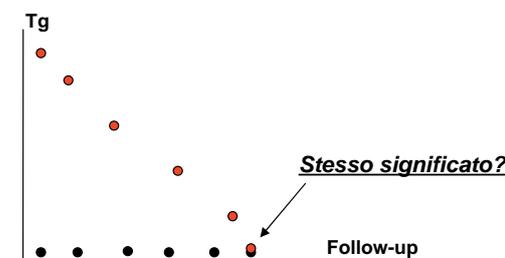
Fig.2. Effetto della concentrazione indosabile della Tg prima dell'intervento

Clinical Endocrinology (2007) 67, 547-551

Preoperative undetectable serum thyroglobulin in differentiated thyroid carcinoma: incidence, causes and management strategy

Luca Giovannella*§, Luca Ceriani*, Antonella Ghelfot, Marco Maffioli† and Franco Keller§

*Nuclear Medicine and Thyroid Unit, Oncology Institute of Southern Switzerland, Bellinzona, Switzerland, †Laboratory for Endocrinology, University Hospital, Varese, ‡ENT, Head and Neck Surgery, University Hospital, Varese, Italy, §Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Ticino Cantonal Hospitals, Bellinzona, Switzerland



Chirurgia

Nei casi in cui la concentrazione di Tg non è dosabile prima dell'intervento non è possibile usare tale determinazione nel follow-up del CTD



Fig.3. Protocollo Bellinzona: esempio di Follow up diagnostico del CTD

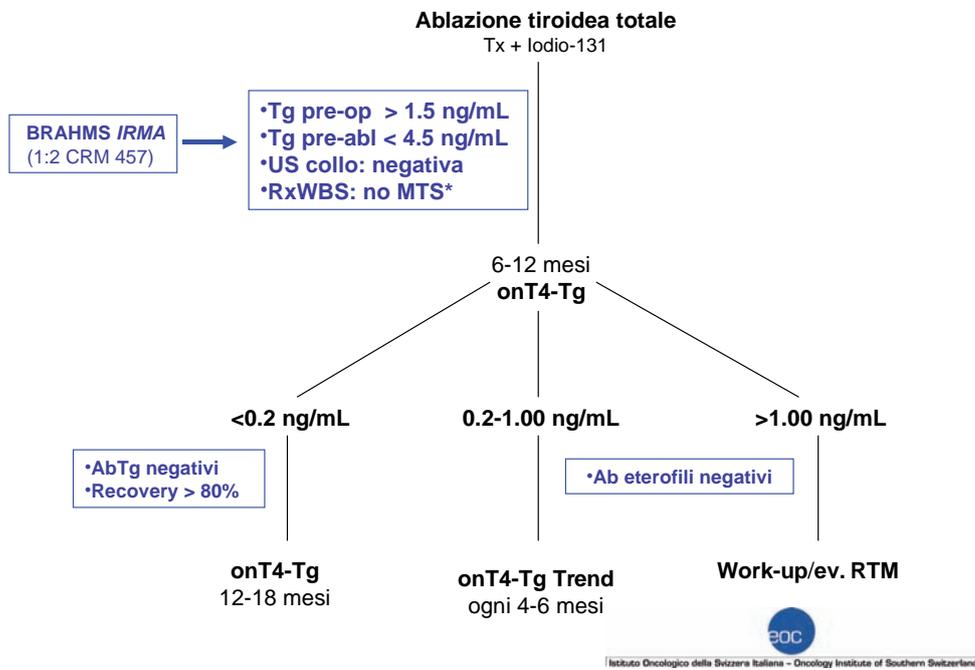


Fig.4. Formato ottimale del referto per Tg ed AbTg

- Unit[^] di misura ($\mu\text{g/L}$)
- Metodo impiegato (IMA ad alta sensibilit[^])
- Sensibilit[^] funzionale (Limite di misura)
 - ⊞ Determinato sperimentalmente
 - ⊞ Non dichiarato dal produttore del metodo/kit
- Commento sulla possibile interferenza di TgAb