LABORATOIRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE BRUXELLES
LHUB - ULB
UNIVERSITAIR LABORATORIUM BRUSSEL

Anticorps dirigés contre le récepteur de la TSH

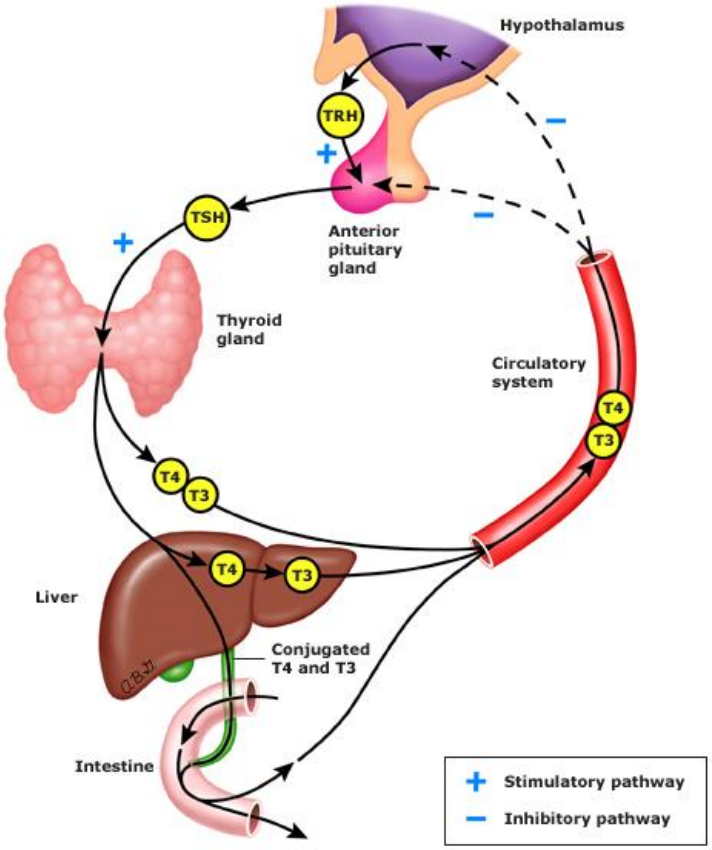
Quel test pour quelle information?

David Fage

Plan

- Introduction
  - Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes
  - Hyperthyroïdie
  - Maladie de Basedow
  - Dosage des TRAbs
  - Intérêts du dosage des T-TRAbs
- Objectifs
- Matériels et méthodes
- Résultats et Discussions
- Conclusions

Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes



TRH increases the secretion of TSH, which stimulates the synthesis and secretion of T3 and T4 by the thyroid gland. T3 and T4 inhibit the secretion of TSH, both directly and indirectly by suppressing the release of TRH. T4 is converted to T3 in the liver and many other tissues by the action of T4 monodeiodinases. Some T4 and T3 is conjugated with glucuronide and sulfate in the liver, excreted in the bile, and partially hydrolyzed in the intestine. Some T4 and T3 formed in the intestine may be reabsorbed. Drug interactions may occur at any of these sites.

TRH: thyrotropin-releasing hormone; TSH: thyroid-stimulating hormone; T4: thyroxine; T3: triiodothyronine.

UpToDate®

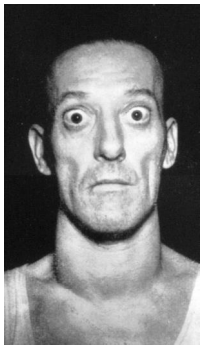
Hyperthyroïdie

- Prévalence: 1% de la population (ratio H/F de 1/10)

- 3 mécanismes physiopathologiques distincts:
  - Augmentation de la synthèse des hormones thyroïdiennes
    - Maladie de Basedow
    - Adénome et goitre multinodulaire toxique
    - « Hashitoxicose »
    - Maladie trophoblastique/tumeur des cellules germinales (homologie β-hCG et TSH)
  - Augmentation du relargage des hormones thyroïdiennes par inflammation de la glande (Thyroïdite)
  - Prise exogène d'hormones thyroïdiennes

Maladie de Basedow

- Prévalence: 0.5% population générale
  - 50-80% des causes d'hyperthyroïdie (ratio H/F de 1/10)
  - Pic entre 40-60 ans



- Syndrome associant:
  - Hyperthyroïdie
  - Goitre diffus homogène à la palpation
  - Orbitopathie/ophtalmopathie (60%)
  - Rarement: myxœdème prétibial (2-5%)
  - Signes de thyrotoxicose

Symptômes
- Perte de poids
- Palpitations, dyspnée
- Intolérance à la chaleur, thermophobie, sudation
- Faiblesse musculaire, fatigabilité
- Nervosité, irritabilité, labilité émotionnelle, dépression, difficultés de sommeil
- Dysfonction érectile, diminution de la libido, dysménorrhée
- Perte de cheveux, ongles cassants
- Boulimie, diarrhées, selles liquides
- Irritation oculaire, larmoiement, œdème périorbitaire, diplopie

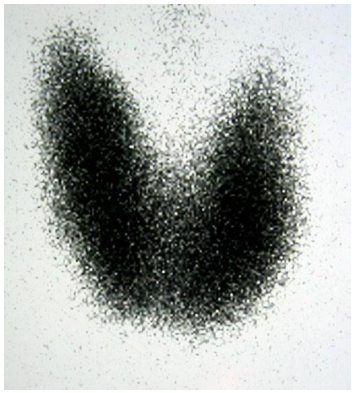
Signes physiques
- Tachycardie
- Troubles du rythme cardiaque
- Hypertension systolique
- Erythème palmaire, onycholyse, aplatissement et amincissement des ongles (ongles de Plummer), myxœdème prétibial, *clubbing*
- Goitre thyroïdien homogène, frémissement à la palpation, souffle thyroïdien systolodiastolique
- Brillance du regard, retard oculo-palpébral, exophtalmie, irritation de la conjonctive, œdème palpébral
- Hyperréflexie avec décontraction musculaire raccourcie, tremblements, force musculaire proximale diminuée
- Gynécomastie
- Hyperactivité motrice, nervosité

Philippe, Rev Med Suisse (2009)

- Etiologie
  - Processus auto-immun aboutissant à la synthèse IgG stimulant TSHr

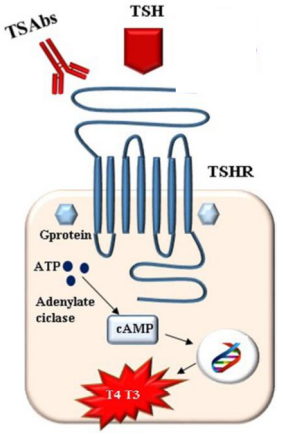
Maladie de Basedow

- Diagnostic
  - Clinique
  - Imagerie (échographie/scintigraphie)
  - Biologique
    - TSH supprimée
    - T4 et/ou T3 fortement augmentée
    - Dosage des auto-Ac anti-récepteur TSH (TRAbs)
      - Pathognomoniques de la maladie de Basedow
      - Sensibilité de 95%



Scintigraphie thyroïdienne

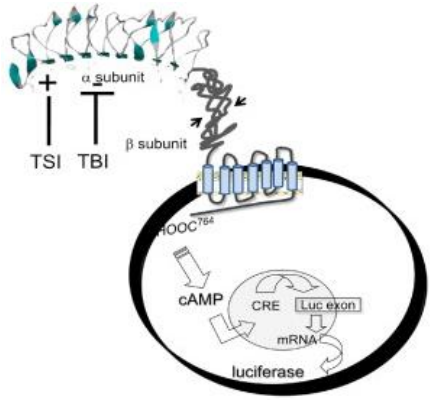
- **Définition du terme TRAbs**:
  - Ac capables d'interagir avec le récepteur à la TSH, sans tenir compte de leurs actions et de la méthode employée pour les détecter/quantifier
  - TRAbs stimulants (S-TRAbs), bloquants (B-TRAbs), neutres (N-TRAbs)



Bucci et al., fendo (2017)

Dosages des TRAbs

- « Bioassays » basés sur la génération AMPc par des cellules transfectées par le gène TSHr humain
  - Dosage activité fonctionnelle des TRAbs (durée 20h!)
    - S-TRAbs: génération AMPc
    - B-TRAbs: inhibition génération basale d'AMPc



Lytton et al., Autoimmun Rev (2010)

- « Receptor assays » basés sur la détection d'une liaison TSHr – TRAbs sans évaluation de l'impact biologique de cette liaison (pas de distinction S-TRABs/B-TRAbs) = T-TRAbs

Dosages des TRAbs

« Bioassays » OU « Receptor assays » ?

- Seule indication pour un bioassay: **femme enceinte** *Bucci et al., fendo (2017)*
  - ***Pourquoi?*** Les TRAbs traversent la barrière placentaire et auront un impact sur la thyroïde fœtale dès 20 semaines de gestation
  - ***A nuancer selon la présence ou l'absence de la glande thyroïde***
    - Présence de la glande: « Receptor assays » suffisants
    - Traitement ablatif de la thyroïde: « Bioassays »

- *Indication secondaire:*
  - *Chez le patient Basedow: 1/3 présente un mixte S-TRAbs et B-TRAbs*
    - *Controverse chez femme enceinte: Δ taux TRAbs au fil de la grossesse (↘ S- et ↗ B-TRAbs)* *Bucci et al., fendo (2017)*
    - *En-dehors du contexte de grossesse: 2.1-2.8% hyperthyroïde → hypothyroïde* *Orgiazzi et al., Ann Endocrinol (2003)*
      → relative discordance entre taux de T-TRAbs et impact sur la thyroïde

Dosages des TRAbs

« Bioassays » OU « Receptor assays » ?

- Seule indication pour un bioassay:
  femme enceinte
  - Traitement ablatif de la thyroïde

Use of ultrasound to distinguish between fetal hyperthyroidism and hypothyroidism on discovery of a goiter.
C. HUEL, J. GUIBOURDENCHE, E. VUILLARD, J. OUAHBA, M. PIKETTY, J. F. OURY and D. LUTON (Ultrasound Obstet Gynecol 2009

Ultrasound score to distinguish hypo- from hyperthyroidism in fetuses with goiter

• Vascularization	Peripheral or absent 0	Central 1
• Fetal heart rate	Normal 0	Tachycardia 1
• Bone maturation	Delayed −1	Normal 0 Accelerated 1
• Fetal movements	Normal 0	Increased 1

An overall score ≥ 2 is suggestive of hyperthyroidism and a score < 2 is indicative of hypothyroidism.

➔ **« Receptor assays » (T-TRAbs) répondent aux besoins cliniques**
➔ **Recommandations suivi du Basedow basées sur taux de T-TRAbs**

Intérêts du dosage T-TRAbs

AMERICAN THYROID ASSOCIATION®
ATA® | *Guidelines*

LABORATOIRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE BRUXELLES
LHUB-ULB
UNIVERSITAIR LABORATORIUM BRUSSEL

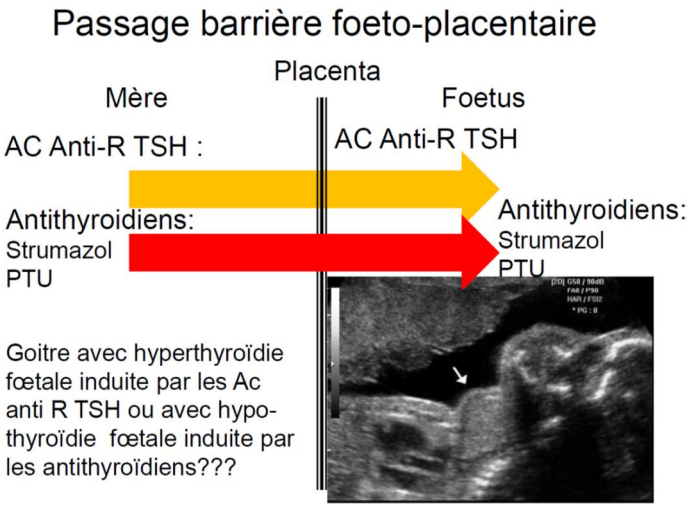
- Diagnostic de la maladie de Basedow
- Taux corrélé avec la sévérité de la maladie
- Pronostic du succès de la thérapie par anti-hormones thyroïdiennes (ATDs)
  - Traitement généralement max 2 ans
  - Si taux T-TRAbs > aux cut-off à 1 an ou à 2 ans de thérapie
    - → risque de rechute de 97%!
    - → poursuivre ATDs ou mesure ablative (RAI ou thyroïdectomie)
- Ophtalmopathie:
  - Diagnostic: 2-5% ont TRAbs+ sans dysfct thyroïdienne
  - Pronostic:
    - >5-8 mois thérapie: taux T-TRAbs corrélé au risque de survenue **et** à la gravité des symptômes
    - Traitement: prednisolone (posologie adaptée en fct du risque)

Intérêts du dosage T-TRAbs

AMERICAN THYROID ASSOCIATION®
ATA® | *Guidelines*

LHUB-ULB

- Femme enceinte:
  - Distinction entre thyrotoxicose gestationnelle transitoire et maladie de Basedow
  - Indispensable chez la femme enceinte sous ATDs ou ayant un passé de Basedow
    - Si taux > 3x N : adaptation thérapeutique et monitoring fœtal étroit
    - Dosage en début de grossesse, 18-22 sem et 30-34 sem
  - Conséquences du passage placentaire des TRAbs:
    - Femme enceinte: prééclampsie, RCIU, accouchement prématuré, DG, césarienne, petit pds de naissance
    - Fœtus: goitre et hyperthyroïdisme



REBIC endocrinologie de la reproduction – Cours prof. Corvilain

Intérêts du dosage T-TRAbs

AMERICAN THYROID ASSOCIATION®
ATA® | *Guidelines*

LABORATOIRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE BRUXELLES
LHUB-ULB
UNIVERSITAIR LABORATORIUM BRUSSEL

Å Distinction thyroïdite du post-partum et maladie de Basedow

Thyroïdite du Post-partum (PP)	Maladie de Basedow
86% des thyrotoxicoses du PP	24% des thyrotoxicoses du PP
≤ 3 mois après la délivrance	≥ 6 mois après la délivrance
Faible flux sanguin dans thyroïde	Augmentation du flux sanguin
TRAbs NEGATIF	TRAbs POSITIF

Å **Et les S-TRAbs?**

- Å Spécifiques de la maladie de Basedow
- Å Responsables des manifestations clinico-biologiques
- ➔ Dosage des S-TRAbs devrait mieux corréler à la clinique que les T-TRAbs
- ➔ Développement « receptor assay » et « bioassay » spécifiques des S-TRAbs
- Å **Mais** pas de recommandations pour S-TRAbs

Génération de dosage des TRAbs

- 1ère génération: bioassays basés sur la génération AMPc
  - Dosage activité fonctionnelle des TRAbs *Lytton et al., Autoimmun Rev (2010)*
  - Bioassay next generation: utilisation TSHr chimérique spécifique des S-TRAbs
  - Sensibilité 95%; spécificité de 96 à 100% *Kamijo et al., Thyroid (2010)*

Objectifs

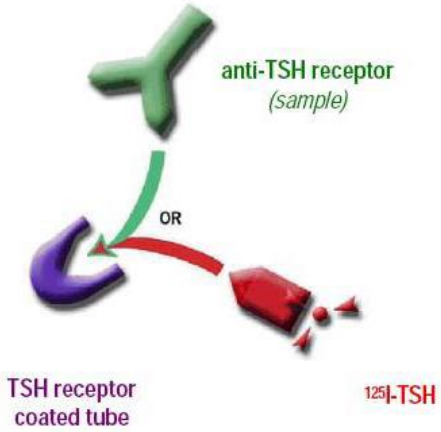
- 2ème génération: méthodes RIA *(kit Brahms - gold standard)*
  - Dosage de tous les Ac. liant le TSHr sans discrimination fonctionnelle (T-TRAbs= S-TRAbs + B-TRAbs)
  - Sensibilité 96%; spécificité 94% *Massart et al., Ann endocrinol (2012)*
- 3ème génération: méthode automatisée de chemiluminescence *(kit Roche évalué)*
  - Dosage des T-TRAbs
  - Excellente corrélation avec les méthodes RIA
  - Sensibilité 96%; spécificité 99% *Autilio et al., Ann Clin Biochem (2018); Tozzoli, et al., Clin Chem Lab Med (2017)*
- 4ème génération: méthode automatisée de chemiluminescence *(kit Siemens évalué)*
  - Dosage des S-TRAbs
  - Sensibilité 98%; spécificité 99,9% *Autilio et al., Ann Clin Biochem (2018); Tozzoli, et al., Clin Chem Lab Med (2017)*

Plan

- Introduction
  - Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes
  - Hyperthyroïdie
  - Maladie de Basedow
  - Dosage des TRAbs
  - Intérêts du dosage des T-TRAbs
- Objectifs
- Matériels et méthodes
- Résultats et Discussions
- Conclusions

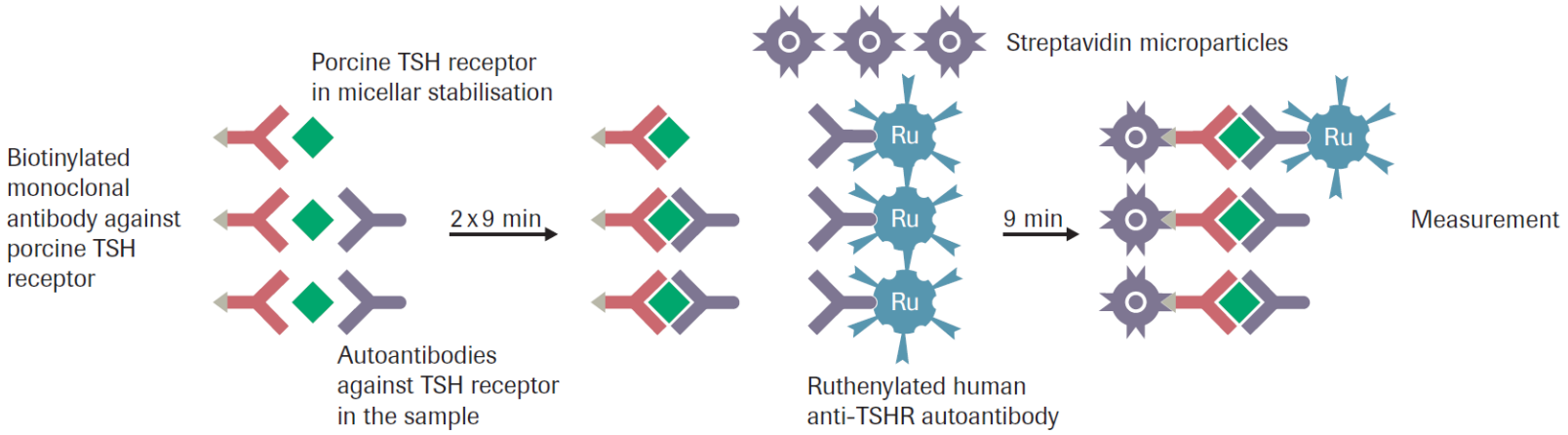
Méthode BRAHMS TRAK humain RIA

- Utilisation TSHr humain recombinant coaté
  - Exposition au sérum du patient
  - Ajout TSH bovine radiomarquée (→ dosage **RIA**)
  - Signal inversement proportionnel à [TRAbs]
- Méthode compétitive en phase hétérogène
- Calibration sur le 1er IS 90/672 du NIBSC
- Dosage des T-TRAbs (S-TRAbs + B-TRAbs)



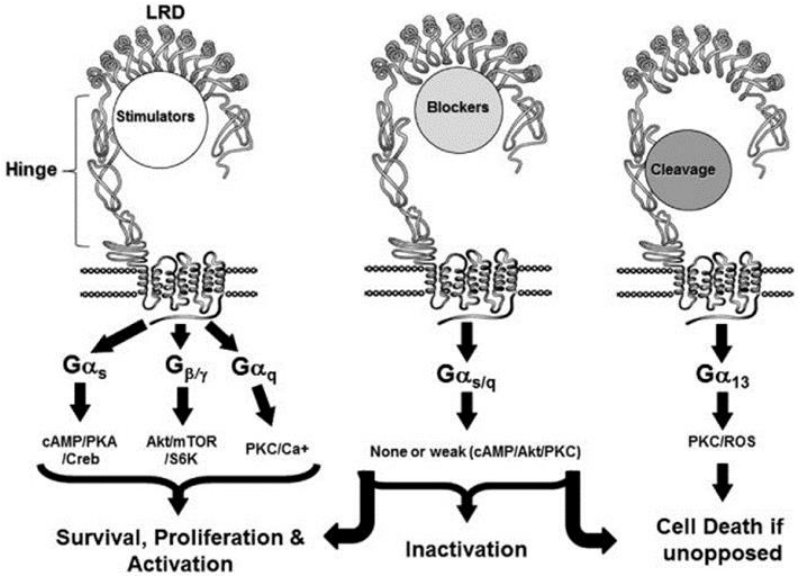
Méthode Roche Elecsys anti-TSHr

- Utilisation Ac. monoclonal thyréostimulant humain (M22)
  - Principe Elecsys: ECLIA reposant sur la liaison biotine/streptavidine
  - Signal chemiluminescent inversement proportionnel à [TRAbs]
- Méthode compétitive dosant les T-TRAbs (S-TRAbs + B-TRAbs)
- Calibration sur le 1er IS 90/672 du NIBSC

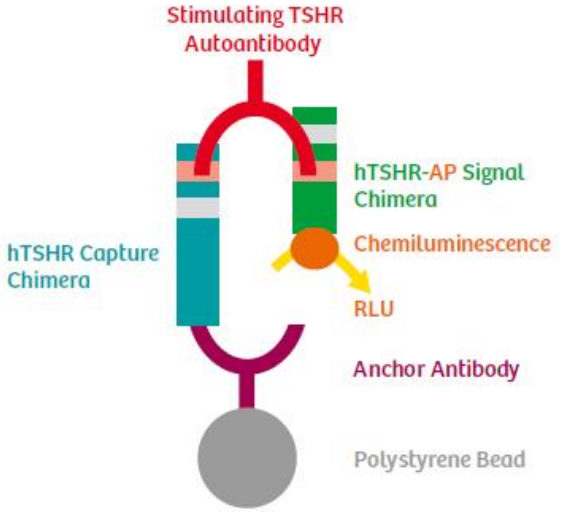


Méthode Siemens Thyroid Stimulating Immunoglobulins (TSI)

- Utilisation TSHr humain recombinant
  - Signal proportionnel à [TRAbs]
  - Dosage spécifique des S-TRAbs par une méthode sandwich
  - Calibration sur le 2ème IS 08/204 du NIBSC



Morshed et al., Horm Metab Res (2015)



1. Add sample, incubate with capture receptor coated bead 30-min
2. Wash
3. Add signal receptor, incubate 30-min
4. Wash
5. Add AP-substrate, incubate 5-min, measure chemiluminescence

Données firmes

Paramètres	BRAHMS	ROCHE	SIEMENS
$CV_{fidélité\ interm.}$ (%)	<15	<13	<9
LOQ (UI/L)	1.0	1.1	0.1
Linéarité (UI/L)	1.0-40	1.1-40	0.1-40
Cut-off clinique (UI/L)	1.5	1.75	0.55
Cible	T-TRAbs	T-TRAbs	S-TRAbs
Standardisation	1er IS 90/672	1er IS 90/672	2ème IS 08/204
Design du test	Compétitif	Compétitif	Sandwich
Durée	2 jours	27 minutes	65 minutes
Réactifs	Prêt à l'emploi	Reconstituer > 60 min avant emploi	Reconstituer > 30 min avant emploi

Plan

- Introduction
  - Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes
  - Hyperthyroïdie
  - Maladie de Basedow
  - Dosage des TRAbs
  - Intérêts du dosage des T-TRAbs
- Objectifs
- Matériels et méthodes
- Résultats et Discussions
- Conclusions

Limite de quantification

- LOQ annoncée avec kit Roche: 1,1 UI/L
- LOQ annoncée avec kit Siemens: 0,1 UI/L

	ROCHE	SIEMENS
n	10	10
Moyenne (UI/L)	1.36	0.14
SD (UI/L)	0.10	0.01
CV (%)	7.5	8.5
CV_{limite} (%)	20	20
Décision	Conforme	Conforme

LABORATOIRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE BRUXELLES

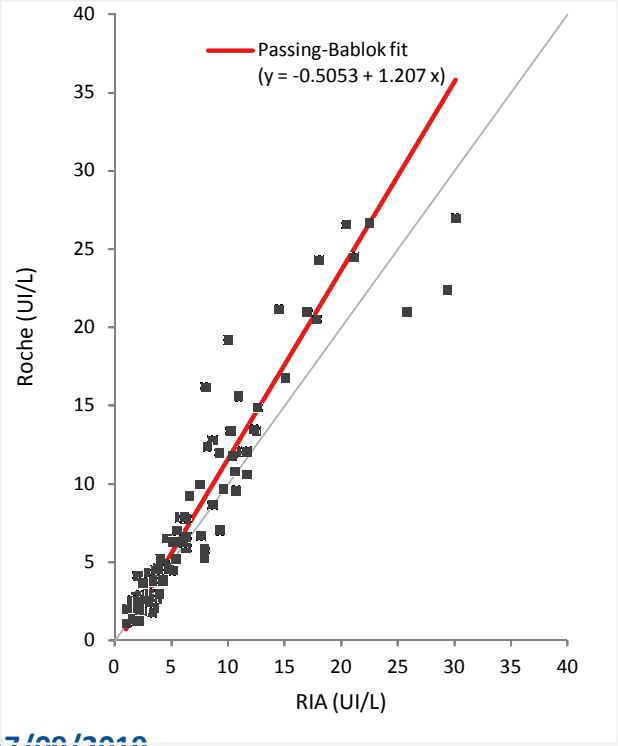
LHUB - ULB

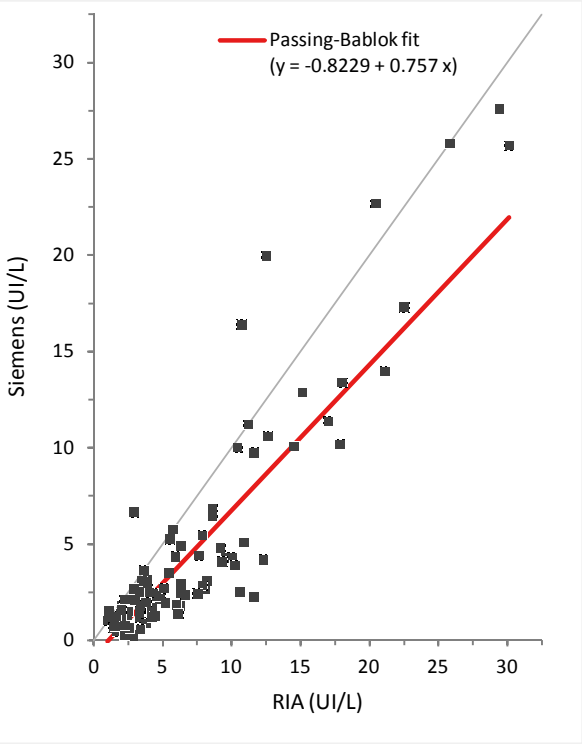
UNIVERSITAIR LABORATORIUM BRUSSEL

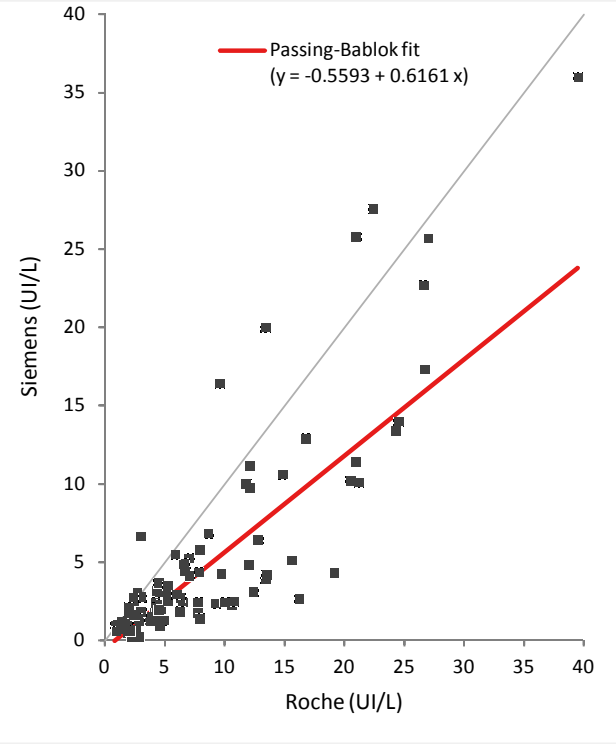
7 October 2019

Comparaison d'échantillons cliniques

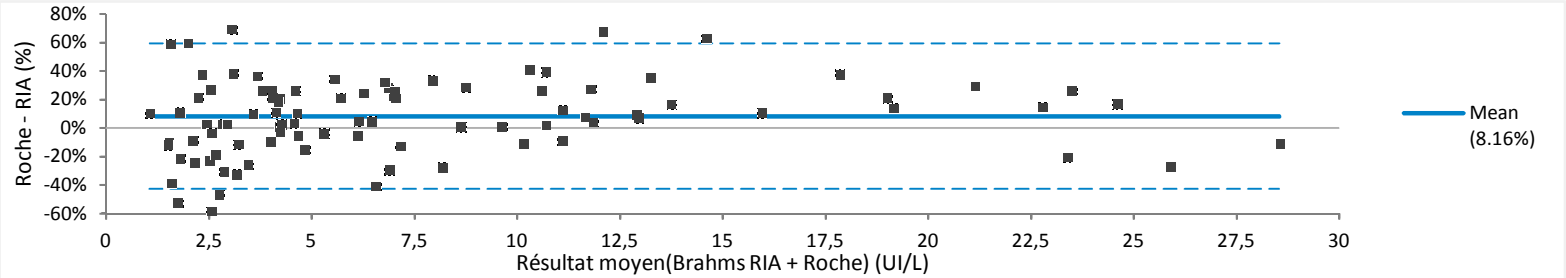
- N=108 patients atteints de la maladie de Basedow (suivi et diagnostic *de novo*)

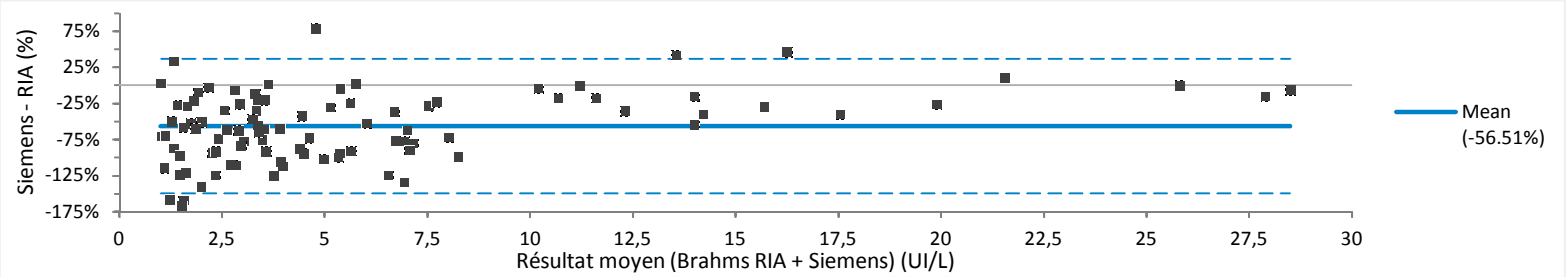


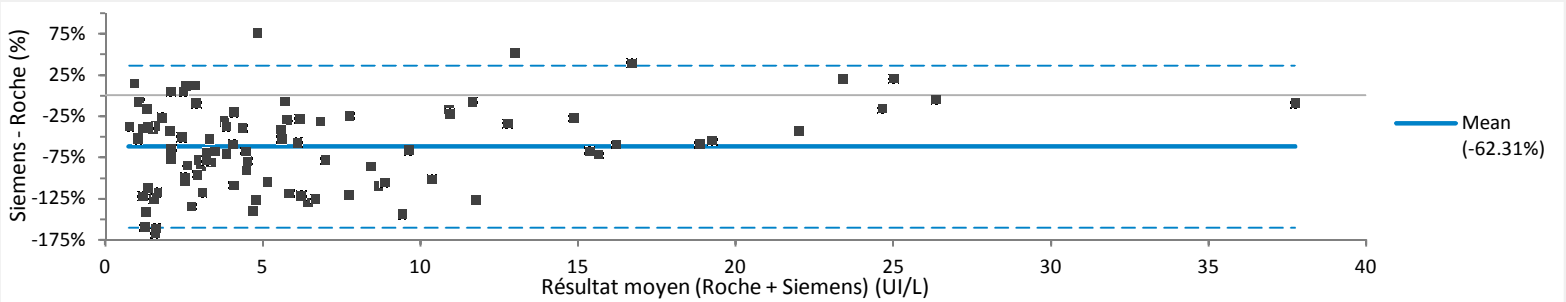




Comparaison d'échantillons cliniques







Comparaison d'échantillons cliniques

- Bon accord entre kit BRAHMS RIA et ROCHE
  - 100% patients ont des résultats de TRAbs concordants (98 POS, 10 NEG)
- Mauvaise corrélation avec SIEMENS
- Cependant:
  - 104/108 (96.3%) patients présentent des résultats de TRAbs concordants
  - 4/108 (3.7%) patients ont des résultats discordants

Patients	BRAHMS RIA (POS >1.5 UI/L)	ROCHE (POS >1.75 UI/L)	SIEMENS (POS >0.55 UI/L)	Clinique
1	1.7	1.90	0.46	Aucun signe d'hyperthyroïdie; ↘ TRAbs depuis 1 an sous ATDs TRAbs NEG 3 mois plus tard en RIA
2	2.2	2.88	0.26	Depuis 2 ans sous ATDs; Echo: séquelles GD, mais absence de nodule circonscrit, pas d'hypervascularisation franche
3	<1.0	0.90	0.62	Thyroïdectomie totale en 2010; TRAbs NEG en RIA **MAIS** signes d'exophtalmie gauche depuis 15 ans…
4	1.5	<0.8	0.73	Présence myxœdème prétibial Dr > G et ophtalmopathie

Performances cliniques du kit SIEMENS

- Evaluation du cut-off diagnostic
  - Impossible car dosages réalisés principalement dans le cadre de suivi
  - Littérature: cut-off 0.54 – 0.57 UI/L *Autilio et al., Ann Clin Biochem (2018); Tozzoli et al., Clin Chem Lab Med (2017)*

- Evaluation de la spécificité du TSHr chimérique pour les S-TRAbs
  - Sélection de 11 patients atteints d'une thyroïdite d'Hashimoto
    - TRAbs NEG avec les 3 méthodes de dosage

      → Impossibilité de vérifier l'absence de réactivité face aux B-TRAbs

    - *5-10% de patients Hashimoto avec B-TRAbs+*
    - *Littérature: pas d'intérêt à doser les B-TRAbs (femme enceinte?)*

Plan

- Introduction
  - Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes
  - Hyperthyroïdie
  - Maladie de Basedow
  - Dosage des TRAbs
  - Intérêts du dosage des T-TRAbs
- Objectifs
- Matériels et méthodes
- Résultats et Discussions
- Conclusions

Conclusions

- Les kits ROCHE et SIEMENS répondent aux critères analytiques de validation

- Kit SIEMENS semble plus sensible et spécifique de la maladie de Basedow
  - Cut-off clinique 0.55 UI/L (VS 1.5 UI/L BRAHMS et 1.75 UI/L ROCHE)
  - Spécificité ↗↗ car positifs chez des patients présentant des signes cliniques d'hyperthyroïdie
  - Absence de réactivité avec les B-TRAbs n'a pu être vérifiée
  - Dilution du sérum permise si titre >40 UI/L

- **MAIS** pas de variation significative du taux de TRAbs dans le suivi des patients Basedow si passage BRAHMS → ROCHE

- Avis de nos endocrinologues → Sélection du kit SIEMENS

Références

- S.D. Lytton, G.J. Kahaly *et al., Autoimmunity Reviews* 10 (2010) 116–122
- J. Perret, M. Ludgate *et al., Biochemical and biophysical research communications* 171 (1990) 1044–1050
- G. Vassart, *Annales d'Endocrinologie* 72 (2011) 55–59
- K. Kamijo *et al., Thyroid 20* (2010)
- C. Massart *et al., Annales d'endocrinologie* 73 (2012) 307
- C. Autilio, R. Morelli *et al., Annals of Clinical Biochemistry* 55 (2018) 172–177
- R. Tozzoli, F. D'Aurizio *et al., Clinical Chemistry Laboratory Medecine* 55 (2017) 58–64
- K. Zöphel, D. Roggenbuck *et al., Autoimmunity Reviews* 9 (2010) 695–700
- A. H. Shyamasunder, P. Abraham, *Clinical Endocrinology* 86 (2017) 652–657
- I. Bucci, C. Giuliani *et al., Frontiers Endocrinology* 8 (2017) article 137
- J. Orgiazzi, A-M. Madec et al., Annals of Endocrinology 64 (2003) 31–36
- REBIC endocrinologie de la reproduction, cours du Prof. Corvilain

JULES BORDET INSTITUUT

CHU | UVC BRUGMANN

Hôpital Erasme ULB

CHU Saint-Pierre UMC Sint-Pieter