



## Revisão

## Fatores de interferência no estudo da função tiroideia

Sofia Gouveia<sup>a,\*</sup>, Fátima Leitão<sup>b</sup>, Cristina Ribeiro<sup>a</sup> e Francisco Carrilho<sup>a</sup><sup>a</sup> Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da Universidade de Coimbra – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E.P.E., Coimbra, Portugal<sup>b</sup> Serviço de Patologia Clínica, Hospitais da Universidade de Coimbra – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E.P.E., Coimbra, Portugal

## INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

*Historial do artigo:*

Recebido a 23 de janeiro de 2013

Aceite a 25 de janeiro de 2016

On-line a 30 de março de 2016

*Palavras-chave:*

Estudo da função tiroideia

Fatores de interferência pré-analíticos

Fatores de interferência metodológicos

Patologia não tiroideia

Fármacos

Interferência imunológica

## R E S U M O

Estão descritos múltiplos fatores de interferência pré-analíticos e metodológicos que podem influenciar os resultados do estudo da função tiroideia e dificultar a sua interpretação diagnóstica. Doseamentos hormonais anómalos, que não correspondam ao estado clínico do doente, devem sugerir a presença de um ou mais fatores de interferência. Neste contexto, devem ser instituídas as medidas adequadas no sentido de minimizar essa interferência e evitar investigação adicional desnecessária e/ou tratamento inapropriado.

© 2016 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Interference factors on thyroid function tests

## A B S T R A C T

Several pre-analytical and analytical interference factors that could influence thyroid function test results and hamper its interpretation have been described. Abnormal results non-coincident with the patient clinical context might suggest that one or more interference factors are implied. Under these circumstances, appropriate actions should be taken, aiming to minimize that interference and prevent further unnecessary investigation and treatment.

© 2016 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Introdução

A tirotropina (*thyroid stimulating hormone* – TSH) é o marcador mais sensível e mais precocemente alterado na disfunção tiroideia (exceto se doença hipotálamo-hipofisária). Existe uma relação logarítmica inversa entre a TSH e a tiroxina (T4) livre. Cada indivíduo tem uma variabilidade reduzida dos níveis de T4 (variabilidade intraindividual) que estará contida dentro de um intervalo de referência mais amplo (variabilidade interindividual). Pequenas variações nos níveis de T4 livre repercutem-se de forma exponencial e inversa sobre a secreção de TSH (retrocontrolo negativo)<sup>1,2</sup>.

Atualmente, o método mais utilizado no doseamento de TSH é o imunométrico de 3.<sup>a</sup> geração, com sensibilidade funcional da ordem de 0,01–0,02 mUI/L, automatizado, rápido e fácil de executar<sup>2–6</sup>.

Toda a T4 em circulação é secretada pela tiroide. No entanto, apenas 10–20% da triiodotironina (T3) provém diretamente da tiroide. A restante T3 é obtida a nível periférico (fígado, rim, músculo esquelético) por intermédio da ação da 5'-deiodinase sobre 35–40% da T4 circulante<sup>1,6–9</sup>.

A 5'-deiodinase tipo 1 encontra-se presente no rim, fígado e tiroide, e a tipo 2 atua a nível do SNC, hipófise e tecido musculoesquelético<sup>10</sup>.

As hormonas tiroideias (HT) circulam maioritariamente ligadas às proteínas transportadoras. Cerca de 70–75% da T4 encontra-se acoplada à globulina ligadora da tiroxina (TBG), 10–20% à trans-tirretina e 5–15% à albumina. A T4 liga-se com grande afinidade à

\* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: sofiamgouveia@gmail.com (S. Gouveia).

**Tabela 1**  
Classificação dos fatores de interferência

Fatores de interferência pré-analíticos
Fisiológicos
Patológicos
Iatrogênicos
Fatores de interferência metodológicos

TBG e à transtirretina. A avidéz de ligação à albumina é inferior, o que permite uma rápida transferência da T4 em circulação para os tecidos. Cerca de 70-75% da T3 é transportada pela TBG, e os restantes 25-30% pela albumina. Comparativamente com a T4, a T3 estabelece ligações de menor afinidade com as proteínas transportadoras. Aproximadamente 0,02-0,04% da concentração de T4 permanece na forma livre (T4 livre), enquanto 0,2-0,4% da T3 se apresenta também sob a forma livre (T3 livre)<sup>8,9,11-13</sup>.

O aumento ou diminuição da concentração/afinidade da TBG acompanha-se de uma variação da concentração da T3 e T4 totais no mesmo sentido (efeito mediado pela TSH), de modo a restabelecer a concentração prévia das frações livres. O doseamento sérico da T3 e T4 livres (em vez da T3 e T4 totais) é vantajoso na medida em que reflete o verdadeiro estado metabólico do indivíduo e se mantém relativamente constante, sendo menos frequentemente influenciado pelos níveis das proteínas transportadoras<sup>4,6,11</sup>.

Os doseamentos de T3 livre e T4 livre podem ser obtidos por 2 tipos de métodos: os diretos e os de estimativa. Os métodos diretos incluem uma primeira fase de separação física entre a fração livre e a ligada das HT (por diálise de equilíbrio, ultrafiltração ou filtração em gel), seguida de quantificação por um imunoensaio ultrasensível. São métodos não automatizados, tecnicamente exigentes, morosos e dispendiosos, sendo utilizados apenas em centros de investigação ou como métodos de referência para calibração inicial dos outros métodos de estimativa. Os resultados obtidos pelos métodos diretos podem ser influenciados pelo pH e temperatura a que decorreu a análise, diluição da amostra, presença de inibidores da ligação às proteínas transportadoras e pela adsorção da hormona aos meios sólidos empregues pela técnica<sup>1,2,4,6</sup>.

A quantificação das HT livres por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem no ultrafiltrado do soro encontra-se ainda em fase de implementação. No entanto, esta técnica parece promissora atendendo ao facto de ser mais fiável e sofrer menor interferência pelas proteínas de transporte, por comparação com os imunoensaios<sup>14</sup>.

Os métodos de estimativa englobam o índice T3/T4 livre e os imunoensaios. Atualmente, a maioria dos laboratórios clínicos recorre à utilização do método de imunoensaio para estabelecer uma estimativa dos níveis de T3 e T4 livres. São métodos automatizados realizados em condições que minimizem a diluição da amostra e que garantam a manutenção do equilíbrio da relação fração livre/ligada das HT. Os resultados podem ser influenciados pela presença de autoanticorpos anti-T3 e/ou anti-T4 e de alterações da concentração ou da afinidade de ligação das proteínas transportadoras<sup>1,3,4,11,15</sup>.

Na tabela 1 surge uma possível classificação dos fatores de interferência no estudo da função tiroideia.

### Fatores de interferência pré-analíticos

#### Fisiológicos

#### Ritmo circadiano e fatores ambientais

A secreção de TSH é pulsátil, com maior frequência de pulsos no período noturno entre as 22 e as 4 horas. As moléculas de TSH libertadas durante este período correspondem a mais de 50% da secreção diária, mas são biologicamente menos ativas, pelo que

não promovem um aumento significativo imediato da secreção das HT<sup>6,8,9</sup>.

A variabilidade intraindividual é superior para a TSH comparativamente com a T4, o que é atribuível ao facto da TSH apresentar menor semivida (60 minutos vs. 7 dias). O ritmo circadiano da secreção da TSH, com níveis mais baixos no período de tempo entre as 10 e as 16 horas pode contribuir, em menor grau, para justificar esta variabilidade<sup>1</sup>.

O verão parece associar-se a níveis mais reduzidos de T3 e T4 total, ocorrendo o inverso no inverno<sup>8</sup>.

Verificou-se que, em doentes previamente submetidos a tiroidectomia, os níveis de T4 (livre e total) aumentavam 20% entre uma a 4 horas após a administração de levotiroxina. Aparentemente, os doseamentos de TSH ou T3 não são influenciados pelo momento de ingestão do fármaco. A estabilização em torno dos valores basais só ocorria cerca de 9 horas após a administração de levotiroxina, pelo que talvez se justifique recomendar aos doentes que a colheita seja efetuada antes da toma diária habitual (particularmente nas situações de hipotiroidismo central, em que a terapêutica é ajustada com base nos níveis de T4 livre)<sup>1,11</sup>.

#### Gravidez

O feto está dependente das HT maternas para suprir as suas necessidades. Essa dependência é absoluta até cerca das 10-12 semanas de gestação (quando a tiroide fetal inicia a produção autónoma de pequenas quantidades de HT); ao nascer cerca de 30% da T4 circulante fetal é de origem materna. A disfunção tiroideia na gravidez associa-se a repercussões importantes a nível materno e fetal. Para evitar erros na interpretação da função tiroideia numa mulher grávida torna-se necessário que os intervalos de referência de cada parâmetro reflitam as alterações fisiológicas associadas à gestação e que quando necessário se opte por métodos laboratoriais que minimizem interferências atribuíveis a esse contexto<sup>16-18</sup>.

Idealmente cada laboratório deveria definir, para cada trimestre de gravidez, os seus intervalos de referência para a TSH e T3/T4 livres e totais. Sendo inviável à maioria dos laboratórios o recrutamento de um número significativo de grávidas que permita estabelecer intervalos de referência específicos ajustados a cada trimestre para os diferentes parâmetros laboratoriais, estes optam geralmente por adoptar os intervalos de referência disponibilizados pela empresa fornecedora de reagentes e equipamentos. No entanto, estes valores de referência podem não ser extrapoláveis se a população-alvo diferir da população de referência em termos étnicos e de aporte de iodo<sup>16,19-21</sup>.

Não é incomum que os laboratórios veiculem apenas informação relativamente aos intervalos de referência a considerar na «população não grávida». Nesse contexto, o clínico pode optar por recorrer aos valores de referência para a mulher grávida que têm sido difundidos pela comunidade científica (disponíveis apenas para a TSH, T3 e T4 totais). Relativamente às frações livres das HT, pode ser necessário (particularmente em mulheres grávidas com resultados anómalos da T3L/T4L obtidos por imunoensaio em discordância com a clínica e/ou com os resultados da TSH e/ou da T3/T4 totais) recorrer a métodos mais fiáveis como a diálise de equilíbrio, a ultrafiltração e a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa em tandem. Os métodos mencionados são, no entanto, demasiado dispendiosos, demorados e complexos para serem utilizados por rotina<sup>16-22</sup>.

A produção placentar de gonadotrofina coriónica humana (hCG) inicia-se cerca de uma semana após a concepção. A concentração máxima de hCG é atingida por volta das 9-11 semanas de gestação, decrescendo posteriormente e estabilizando por volta das 20 semanas. Atendendo à semelhança molecular, a hCG atua como agonista dos recetores de TSH, estimulando a secreção de T3 e T4 e por conseguinte frenando a produção de TSH. A concentração de hCG correlaciona-se diretamente com a concentração de T3 e T4 livres,

que se eleva ligeiramente no 1.º trimestre e decresce no 2.º e 3.º trimestres (ainda que se mantenha dentro dos intervalos de referência). Verifica-se que a concentração de TSH varia no sentido inverso: diminui no 1.º trimestre e aumenta no 2.º e 3.º trimestres, ainda que não atinja o limite superior da normalidade estabelecido para mulheres não grávidas. As alterações laboratoriais mencionadas são mais significativas em gestações gemelares<sup>16-20</sup>.

A American Thyroid Association (ATA) recomenda que, na ausência de intervalo de referência para a TSH fornecido pelo laboratório, se utilizem os seguintes intervalos: 0,1-2,5 mUI/L (1.º trimestre); 0,2-3,0 mUI/L (2.º trimestre) e 0,3-3,0 mUI/L (3.º trimestre). Mulheres de ascendência asiática ou africana têm níveis de TSH em média 0,4 mUI/L inferiores aos de mulheres caucasianas<sup>19</sup>.

O aumento dos níveis de estrogénios durante a gravidez condiciona um aumento da síntese hepática e da glicosilação da TBG, prolongando a semivida da molécula. Destas alterações resulta um aumento da concentração da TBG, com subsequente aumento de cerca de 50% das concentrações de T3 e T4 totais (comparativamente com a população de mulheres não grávidas). A elevação das concentrações de TBG, T3 e T4 totais é progressiva, estabilizando por volta das 20 semanas de gestação<sup>16-18,20,21</sup>.

O aumento da concentração de TBG e a redução da concentração de albumina habitual em contexto de gravidez influenciam também os doseamentos por imunoensaio de T3 e T4 livres, condicionando respetivamente valores falsamente elevados ou reduzidos. Alguns autores recomendam a criação de intervalos de referência ajustados ao trimestre de gravidez, ao aporte de iodo da população estudada e ao método utilizado, a definir por cada laboratório. Por oposição ao que se verifica com a TSH e T3/T4 totais, não se encontram estabelecidos intervalos de referência bem definidos e globalmente aplicáveis para os parâmetros T3 e T4 livre<sup>16-22</sup>.

A ATA recomenda a utilização da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa em *tandem* no dialisado ou ultrafiltrado da amostra sérica como método ideal para a determinação da T4 livre numa mulher grávida (grau de evidência A). Caso este método não esteja disponível, o resultado do doseamento de T4 livre fornecido pelo laboratório deve ser interpretado de forma crítica, tendo em consideração possíveis limitações inerentes à técnica utilizada<sup>19</sup>.

#### Estados de jejum a inanição

Decorrente da necessidade de minimizar o dispêndio energético, o eixo hipotálamo-hipofisário-tiroideu é inibido. Constata-se uma diminuição da secreção da TRH e (subsequentemente) da TSH, mediada pelo decréscimo dos níveis de leptina. Paralelamente, a glicosilação anómala da TSH limita a sua atividade biológica de estimulação da síntese de HT; a capacidade da 5'-deiodinase de converter T4 em T3 encontra-se também comprometida. Estas alterações determinam uma redução dos níveis de T3 (total e livre)<sup>7,23</sup>.

Transitoriamente (nas primeiras 2 semanas), o jejum promove um aumento dos níveis de ácidos gordos livres (AGL), mobilizando a T4 previamente ligada a proteínas transportadoras, com ligeira repercussão sobre os níveis de T4 livre. A longo prazo, a desnutrição mantida induz diminuição da concentração da TBG e T4 total<sup>7</sup>.

#### Patológicos

##### Non-thyroidal illness syndrome

Cerca de 40-75% dos doentes hospitalizados apresentam alterações analíticas compatíveis com *non-thyroidal illness syndrome* (NTIS), entidade clínica por vezes designada por síndrome de T3 baixa ou *euthyroid sick syndrome*. Contudo, apenas uma fração residual destes doentes (inferior a 1%) apresenta verdadeira disfunção

tiroideia. Os sintomas sugestivos de disfunção tiroideia são inespecíficos, podendo coincidir com as manifestações clínicas inerentes às patologias concomitantes<sup>7,9,23,24</sup>.

A NTIS é comumente diagnosticada em contexto de diabetes *mellitus* com controlo metabólico não otimizado, síndrome coronária aguda, insuficiência cardíaca congestiva, cirurgia major ou traumatismo. Caracteriza-se pela presença de níveis séricos baixos de T3 (livre e total) e normais-baixos de T4 total. A T4L é geralmente normal. A elevação dos níveis de T4 (livre e total) pode ocorrer em situação de doença psiquiátrica aguda<sup>7,9,23,24</sup>.

Na NTIS os níveis de TSH estão geralmente dentro do intervalo de referência, permitindo distingui-la da disfunção tiroideia. Podem contudo ser baixos na fase aguda (com ensaios de TSH de 3.ª geração os níveis serão ainda detetáveis, por oposição a uma situação de tirotoxicose) e elevar-se até às 20 mUI/L durante a recuperação. Níveis de TSH superiores a 20 mUI/L e de T4L baixos favorecem a hipótese de hipotiroidismo concomitante<sup>1,7,8,24</sup>.

Em situações de sépsis ou de trauma, pode ocorrer aumento da atividade da 5'-deiodinase tipo 2 hipotalâmica, induzindo um aumento da produção local de T3 e subsequente inibição da produção de TRH. Um dos outros mecanismos associados à inibição da secreção de TRH (com inerente hipotiroidismo central) envolve a diminuição dos níveis de leptina em contexto de desnutrição<sup>24</sup>.

A supressão da TSH pode ainda ser consequência da elevação da T4L (retrocontrolo negativo), do aumento das citocinas inflamatórias e da administração terapêutica de glicocorticoides ou de dopamina<sup>1,9,24</sup>.

Para além da indução de um hipotiroidismo central previamente mencionado, vários mecanismos contribuem para níveis baixos de T3 (e eventualmente de T4) característicos da NTIS. Tradicionalmente considerava-se que os níveis baixos de T3 (livre e total) eram atribuíveis à diminuição da conversão da T4 em T3 por inibição das 5'-deiodinases tipo 1 e 2 (como consequência da ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-suprarrenal e da secreção de citocinas que habitualmente ocorre em situações de *stress* pós-cirurgia, traumatismo, doenças sistémicas agudas ou crónicas). A verdadeira importância da eventual associação causal entre a inibição das 5'-deiodinases e os níveis de T3 tem sido recentemente questionada. Em contexto de doença aguda, a redução da concentração e da afinidade de ligação das proteínas transportadoras justifica um decréscimo nos doseamentos de T3 e T4 totais. Paralelamente, pode ocorrer depleção do ATP intracelular ou presença de substâncias plasmática (ex.: AGL) que interfiram com a ação dos transportadores celulares das HT, impedindo a sua entrada nas células<sup>1,3,7-9,23,24</sup>.

A magnitude das alterações analíticas detetadas correlaciona-se com a gravidade da doença sistémica e com a probabilidade de sobrevivência. Níveis de T4 total baixos associam-se a elevada taxa de mortalidade. O recurso a terapêutica de substituição com levotiroxina é controverso. Presentemente esta opção terapêutica não é preconizada na medida em que não se associa a melhoria da taxa de sobrevivência e pode eventualmente induzir reações adversas significativas na ausência de um verdadeiro estado de hipotiroidismo (síndrome coronária aguda, arritmias). O tratamento específico da doença subjacente promove a regressão das referidas alterações analíticas, confirmando que o doente se encontra em eutiroidismo ou, pelo contrário, revelando um estado de hipo ou hipertiroidismo previamente oculto<sup>1,7,23</sup>.

Sempre que possível (desde que não exista clínica francamente sugestiva de disfunção tiroideia), o estudo hormonal deve ser protelado até que o doente esteja completamente recuperado da patologia intercorrente<sup>1</sup>.

Na ausência de terapêutica com dopamina ou glicocorticoides, o doseamento de TSH é o parâmetro analítico mais fiável. Deve ser interpretado conjuntamente com o doseamento de T4 livre ou total. Alterações congruentes de TSH e T4 sugerem verdadeira disfunção tiroideia primária. Anomalias incongruentes indiciam

NTIS (ou mais raramente disfunção tiroideia central). Níveis baixos de T3/T4 e de TSH podem sugerir a hipótese de hipotireoidismo central. Para estabelecer o diagnóstico diferencial entre hipotireoidismo central e NTIS será útil a avaliação da função adrenocortical. Este setor será dos primeiros a entrar em falência numa lesão hipotálamo-hipofisária; por oposição, estará ativado numa situação de stress que origine NTIS<sup>1,9</sup>.

Valores de T4 livre alterados devem ser confirmados pelo doseamento da T4 total. Variações de T4 livre e total em sentidos opostos são normalmente justificadas pela patologia sistémica aguda e fármacos administrados. Nestes doentes, níveis normais ou elevados de T3 indiciam tirotóxicose (níveis diminuídos não excluem este diagnóstico)<sup>1</sup>.

Torna-se portanto imperativo que o médico saiba aferir em que situações se justifica requisitar o estudo da função tiroideia, contextualizar os resultados atendendo à situação clínica do doente e concluir se a intervenção terapêutica é oportuna. Pretende-se que a NTIS não seja (indevidamente) tratada e que doentes com disfunção tiroideia (mas doseamentos hormonais espuriamente normais) sejam corretamente identificados<sup>23</sup>.

#### Patologia renal

A síndrome nefrótica cursa com proteinúria. Caso coexista redução da taxa de filtração glomerular, a perda renal de TBG assume um impacto negativo significativo sobre a sua concentração sérica, com subsequente redução dos níveis de T3 e T4 totais. Verifica-se ainda menor atividade da 5'-deiodinase, com diminuição dos níveis de T3 livre e total<sup>7,13,23</sup>.

O recurso à terapêutica com glicocorticoides nestes doentes constitui um fator de confundimento adicional, na medida em que inibe a secreção de TSH e a conversão de T4 em T3<sup>7,23</sup>.

Na insuficiência renal crónica (IRC), a diminuição da concentração e da afinidade da TBG pelas HT determina uma redução dos níveis de T3 e T4 totais. Os níveis de T3L podem apresentar-se igualmente diminuídos, como consequência da redução da conversão de T4 em T3 e da acidose metabólica crónica habitualmente verificadas nesta situação<sup>7,13,23</sup>.

A heparina administrada em contexto de hemodiálise pode justificar elevação da T4L<sup>7,23</sup>.

Os níveis de TSH apresentam-se normais ou ligeiramente aumentados, na medida em que a glicosilação anómala de TSH nestes doentes prolonga a sua semivida plasmática<sup>7,23</sup>.

As alterações associadas à IRC são normalmente revertidas após transplante renal, ainda que o uso crónico de glicocorticoides eventualmente constitua um novo fator de interferência<sup>7</sup>.

#### Patologia hepática

Na hepatite aguda, hepatite autoimune ativa crónica e cirrose biliar primária, a destruição dos hepatócitos leva à libertação de TBG para a circulação, contribuindo para a elevação da T3 e T4 totais. Os doentes com hepatite autoimune ativa crónica ou cirrose biliar primária podem apresentar concomitantemente disfunção tiroideia autoimune, que deve ser diagnosticada e tratada<sup>7,13,23</sup>.

Doentes com cirrose apresentam normalmente níveis reduzidos de T3 (livre e total) e de T4 total, por oposição a níveis de T4 livre elevados. Esta apresentação analítica é justificada pelo facto do fígado ser o principal local de atuação da 5'-deiodinase tipo 1 e de síntese de albumina e TBG. Na medida em que a capacidade hepática de depuração de TBG (através da remoção de resíduos de ácido siálico) está comprometida, persistem em circulação moléculas de TBG com menor número de resíduos de ácido siálico e subsequente menor afinidade pela T4. O contributo de moléculas inibidoras da ligação da T4 à TBG para o padrão de elevação da T4L, sugerido por alguns estudos, é controverso<sup>7,23</sup>.

#### Patologia infecciosa

A secreção de TSH (e inerente produção de HT) é inibida pelas citocinas habitualmente produzidas em contexto de sépsis (nomeadamente interleucina-1 $\beta$  [IL-1 $\beta$ ], recetor solúvel da IL-2, IL-6, fator de necrose tumoral- $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ] e fator nuclear- $\kappa$ B [NF- $\kappa$ B])<sup>7</sup>.

A desnutrição decorrente da infeção contribui para a redução da secreção de TSH, de HT e da conversão periférica de T4 em T3<sup>7,23</sup>.

Resultante do efeito das citocinas e da desnutrição, o padrão analítico destes doentes caracteriza-se por níveis diminuídos de TSH, T3 (livre e total) e de T4 total. A T4L pode estar diminuída, normal ou ligeiramente aumentada (as últimas hipóteses podem verificar-se caso o impacto da redução da capacidade de ligação à TBG e da depuração por inibição da 5'-deiodinase seja significativo)<sup>7,23</sup>.

Na fase mais avançada da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) pode constatar-se uma elevação da concentração da TBG e subsequentemente da T4 total. O aumento da síntese hepática e eventuais alterações na glicosilação da TBG justificam o referido padrão analítico. Níveis de T3 baixos, observados em fases muito avançadas da doença, associam-se a taxas de mortalidade mais elevadas<sup>7,13</sup>.

#### Patologia tumoral

A maioria das alterações analíticas da função tiroideia presentes nestes doentes é justificável pelo envolvimento multissistémico, desnutrição associada e terapêutica instituída<sup>23</sup>.

Os tumores trofoblásticos (coriocarcinoma e mola hidatiforme), ao libertarem grande quantidade de hCG (mimetiza a ação da TSH) induzem hipertireoidismo, com elevação dos níveis de T3 e T4 e frenagem da TSH. Adicionalmente a mola hidatiforme promove um estado de hiperestrogenismo endógeno, com o aumento da TBG a contribuir para a elevação da T3 e T4 totais<sup>8,13,23</sup>.

O carcinoma hepatocelular induz aumento da síntese de TBG, provocando elevação da T3 e T4 totais<sup>13,23</sup>.

Os tumores hepáticos e os tumores endócrinos do pâncreas secretam transtirretina. Associam-se a elevação da T4 total (sem influência sobre o doseamento da T3 total) caso o aumento da síntese desta proteína transportadora seja considerável<sup>9,13</sup>.

#### Patologia psiquiátrica

Está descrito um estado de hipertiroxinemia transitória na fase aguda de algumas doenças psiquiátricas (nomeadamente a depressão major e psicoses). A remissão ocorre até 2 semanas após o início do tratamento dirigido à psicopatologia de base<sup>23</sup>.

Caracteriza-se pela elevação dos doseamentos de T4 (livre e total), com níveis normais de TSH e T3. Pensa-se que este padrão analítico esteja relacionado com a redistribuição para a circulação da T4 previamente armazenada no fígado<sup>23</sup>.

#### Doenças hereditárias que condicionam alteração da concentração ou da afinidade das proteínas transportadoras de hormonas tiroideias

As patologias associadas a redução da concentração ou da afinidade da transtirretina e da albumina não condicionam variações na concentração total das HT, pelo que não serão discutidas neste artigo<sup>13</sup>.

As síndromes hereditárias associadas a alteração da concentração/afinidade das proteínas transportadoras são de transmissão ligada ao X (TBG) ou autossómica dominante (transtirretina/albumina)<sup>13</sup>.

A deficiência total de TBG tem uma incidência de um caso por cada 15.000 recém-nascidos do sexo masculino. Pode ocorrer por dupla mutação pontual *missense* (que determina substituição do aminoácido leucina por prolina na posição 227 e do aminoácido leucina por fenilalanina na posição 283) ou por mutações *frameshift* (associadas a interrupção prematura da proteína a nível do

aminoácido na posição 167 ou 374). Esta patologia caracteriza-se por níveis muito reduzidos de T3 e T4 totais<sup>13</sup>.

A deficiência parcial da TBG ocorre em média uma vez em cada 4.000 nascimentos do sexo masculino e é atribuída a variantes da TBG. As mutações pontuais *missense* implicadas contribuem para a redução da estabilidade e eventualmente da capacidade de ligação da proteína. Os níveis de T3 e T4 totais encontram-se reduzidos em doentes com variantes *Gary*, *Montreal*, *Quebec* ou *Aborigine*. Nas variantes *San Diego* e *Slow* observa-se repercussão exclusivamente sobre a concentração da T4 total.<sup>13</sup>

Um em cada 25.000 recém-nascidos do sexo masculino tem critérios de diagnóstico de excesso hereditário de TBG. O padrão analítico inerente caracteriza-se por elevação muito significativa dos níveis de TBG, T3 e T4 totais<sup>13</sup>.

Na hipertiroxinemia disalbuminémica familiar existe em circulação uma variante da albumina com aumento da afinidade pela T4 (e eventualmente pela T3 em algumas isoformas), com repercussão sobre o(s) respetivo(s) doseamento(s). Estas variantes apresentam também aumento da afinidade pelos análogos da T4 marcados, podendo condicionar estimativas falsamente elevadas de T4 livre (principalmente no imunoensaio de passo único). O recurso a imunoensaios de passo duplo ou a diálise de equilíbrio seguida de imunoensaio permite doseamentos de T4 livre mais fiáveis nos doentes com esta patologia<sup>1,11,13,15</sup>.

A hipertiroxinemia associada à transtirretina é causada por uma variante (substituição da treonina pela alanina no codão 109), com maior afinidade pela T4, induzindo por vezes elevação da T4 total<sup>13</sup>.

O eutiroidismo pode ser confirmado em todas as patologias mencionadas nesta subsecção, através do doseamento da TSH e das frações livres das HT (por métodos não afetados por alterações das proteínas transportadoras, nomeadamente por diálise de equilíbrio, ultrafiltração e filtração em gel). O recurso a métodos de estimativa do doseamento de T3/T4 livre será falseado na presença de concentrações anómalas das proteínas transportadoras. Por outro lado, a coexistência destas doenças em indivíduos que desenvolvam tirotoxicose ou hipotiroidismo poderá minimizar as alterações analíticas (caso se recorra ao doseamento da T3 e T4 totais), dificultando a sua interpretação e protelando o diagnóstico e tratamento adequados<sup>13</sup>.

#### *Início recente de terapêutica direcionada para a disfunção tiroideia e/ou má adesão ou estados de malabsorção*

Atendendo à semivida longa da T4 (7 dias), são necessárias cerca de 4-12 semanas de tratamento/equilíbrio mantido para que a TSH normalize. Em doentes com hipo ou hipertiroidismo grave, a TSH persiste inadequadamente elevada ou frenada durante vários meses após a regularização dos doseamentos de T3 e T4. Portanto, face a uma situação de instabilidade da função tiroideia (tratamento recente com levotiroxina, anticorpos de síntese ou <sup>131</sup>I), o doseamento da T4L é melhor marcador analítico do que a TSH<sup>1,8,9</sup>.

Doentes com omissão frequente das tomas de levotiroxina podem apresentar níveis de TSH e T4 livre discordantes. Se a prescrição apenas é cumprida nos dias que antecedem o controlo analítico (com recurso à dose habitual ou a sobredosagem), os doentes podem apresentar níveis de T4L respetivamente normais ou aumentados, com persistência de TSH elevada<sup>1,8,15</sup>.

A cirurgia intestinal pode induzir malabsorção, resultando num padrão analítico caracterizado por TSH aumentada e T4 e T3 diminuídos. Estas alterações mantêm-se após o início da terapêutica de substituição<sup>8</sup>.

#### *Iatrogénicos*

O consumo de fármacos pode constituir-se como fator de interferência no estudo da função tiroideia. A interferência concretiza-se através da modulação da secreção de TSH, da síntese, secreção,

distribuição e metabolização das HT, e da concentração e afinidade de ligação das proteínas transportadoras<sup>23</sup>.

#### *Fármacos que interferem com a absorção das hormonas tiroideias*

A administração de levotiroxina deve preceder a refeição, com um desfasamento mínimo de 4 horas da restante medicação ou suplementos vitamínicos. Caso se opte pela administração à hora de deitar, a última refeição deve ter ocorrido 2 horas antes. É particularmente reconhecida a interferência de algumas substâncias sobre a absorção de levotiroxina, nomeadamente o sulfato ferroso, carbonato de cálcio, hidróxido de alumínio, sucralfato, colestiramina e proteínas derivadas de soja<sup>1,8</sup>.

#### *Fármacos que interferem com o metabolismo das hormonas tiroideias*

##### *Redução do metabolismo das hormonas tiroideias.*

*Amiodarona.* As alterações analíticas condicionadas pela amiodarona são atribuíveis à libertação de iodo para a circulação (37% da molécula é constituída por iodo). Uma dose diária de 100-600 mg de amiodarona (absorção variável entre 22-80% e biodisponibilidade de 40%) disponibiliza 3-21 mg de iodo, o correspondente até 140 vezes a dose diária recomendada (150 µg). Sendo uma molécula lipofílica, a amiodarona acumula-se em vários tecidos, tendo uma semivida de 40 dias (o seu metabolito ativo – desetilamiodarona – tem uma semivida de 57 dias)<sup>7,10,23</sup>.

A 5'-deiodinase tipo 1 é inibida e por conseguinte os doentes apresentam níveis de T3 diminuídos e de T4 aumentados. A amiodarona promove também a inibição da 5'-deiodinase tipo 2, com diminuição do transporte intracelular de T4 e da ligação da T3 aos recetores hipofisários. Estas alterações conjugam-se para induzir ligeira elevação da TSH. Estes efeitos são transitórios, com normalização após meses de tratamento com amiodarona. Regista-se uma lentificação do metabolismo da T4, pelo que os níveis de T4 (livre e total) persistem ligeiramente elevados a longo prazo<sup>7,10,23</sup>.

A maioria dos doentes tratados com amiodarona mantém-se em eutiroidismo. No entanto, o fármaco pode, *per se*, determinar um quadro de verdadeira disfunção tiroideia. O hipotiroidismo afeta 5-25% dos doentes (a frequência decai para 5-10% em doentes em tratamento há mais de um ano) e a tirotoxicose 2-10%<sup>7,8,10</sup>.

O hipotiroidismo induzido pela amiodarona é mais frequente em mulheres (1,5 ♀:1 ♂), regiões com aporte adequado de iodo e indivíduos com anticorpos antitiroideos. O excesso de iodo intratiroideu vai promover o efeito de Wolff-Chaikoff, ou seja, a inibição da oxidação do iodeto pela tiroperoxidase da célula folicular tiroideia em iodo (que seria incorporado nos resíduos de tirosina da molécula de tiroglobulina)<sup>10</sup>.

A tirotoxicose induzida pela amiodarona é mais frequente em homens (1 ♀:3 ♂), e áreas geográficas com deficiência em iodo. Subdivide-se em 2 tipos<sup>10</sup>.

A tirotoxicose induzida pela amiodarona tipo 1 é atribuível ao efeito Jod-Basedow (o excesso de iodo favorece a autonomia da glândula tiroideia), sendo mais frequente em doentes com antecedentes de patologia tiroideia, nomeadamente doença de Graves e bócio difuso ou multinodular. A tirotoxicose induzida pela amiodarona tipo 2 decorre de um processo de tiroidite (com destruição das células tiroideias e libertação hormonal para a circulação), mais comum em indivíduos sem doença tiroideia prévia<sup>1,10</sup>.

Atendendo à inibição da 5'-deiodinase tipo 1 pela amiodarona, a T3 será melhor marcador da gravidade da tirotoxicose que a T4 (a T4 estará aumentada mesmo em doentes em eutiroidismo). Pela diminuição da conversão de T4 em T3 e pelo efeito antiadrenérgico da amiodarona, estes doentes podem apresentar-se assintomáticos ou minimamente sintomáticos<sup>1,10</sup>.

*Glicocorticoides.* Os efeitos dos glicocorticoides dependem da dose e via de administração dos fármacos. As interferências são

mais comuns quando são empregues doses elevadas de glicocorticoides, podendo manifestar-se entre 24-36 horas após o início da terapêutica. Inibem a secreção de TSH (dificultando o diagnóstico de uma situação de hipotireoidismo primário), diminuem a concentração e capacidade de ligação da TBG e a conversão de T4 em T3. O resultado final são níveis baixos ou muito baixos de T3, níveis baixos de TSH e T4 total e ligeiramente reduzidos a normais de T4 livre<sup>1,7,8,23</sup>.

**Propranolol.** O propranolol exerce um efeito mínimo de inibição da 5'-deiodinase, com redução de T3 (dose-dependente), preservando níveis normais de TSH<sup>7,8,23</sup>.

O bloqueio de conversão de T4 em T3, reduzindo os níveis de HT circulantes e a sua atividade periférica justifica a utilização de propiltiouracilo, glicocorticoides e propranolol no tratamento da crise tirotoxicosa<sup>9</sup>.

**Agentes de contraste iodado.** Os agentes de contraste iodado inibem as 5'-deiodinases tipo 1 e 2. Deste modo, elevam ligeiramente a T4 sérica e diminuem os níveis séricos de T3 e a produção local de T3 a nível hipofisário, com subsequente aumento da secreção da TSH. O uso de contraste iodado pode agravar situações de hipotireoidismo prévio. Grandes doses de iodo podem desencadear tirotoxicose em doentes com potencial função tiroideia autónoma<sup>7,8</sup>.

**Aumento do metabolismo das hormonas tiroideias.** A fenitoína, a carbamazepina e o fenobarbital estimulam a captação e metabolização hepáticas da T4 e T3 (em parte através da ação da 5'-deiodinase). Doses supraterapêuticas inibem a ligação da T4 à TBG, com aumento agudo da T4 livre. Globalmente, os doentes apresentam níveis de T4 (livre e total) ligeiramente diminuídos, T3 (livre e total) normais ou ligeiramente reduzidos e TSH normal<sup>1,7,8,23</sup>.

#### *Fármacos que influenciam a concentração da globulina ligadora da tiroxina*

O uso de estrogénios e de tamoxifeno (modulador seletivo dos recetores de estrogénios) origina um aumento da concentração da TBG e, associadamente, da T3 e T4 totais, sem interferir com os níveis de TSH, T3 e T4 livres. Os estrogénios (exceto se administrados por via transdérmica), induzem aumento da síntese e glicosilação da TBG, diminuindo a sua depuração<sup>3,6,8,9,11,13,23</sup>.

O consumo de heroína, metadona, mitotano, clofibrato e 5-fluorouracilo condicionam um padrão analítico similar<sup>3,6,8,9,11,13,23</sup>.

Os androgénios (nomeadamente os esteroides anabolizantes) diminuem a concentração da TBG e por conseguinte a de T3 e T4 total, sem influenciar os níveis de TSH e de T3 e T4 livres. Efeito semelhante é originado pelo uso de L-asparaginase (fármaco anti-neoplásico), danazol, ácido nicotínico e glicocorticoides<sup>3,6,8,9,13,23</sup>.

#### *Fármacos que interferem com a secreção de TSH*

O uso prolongado (dias) de dopamina inibe a secreção de TSH, com subsequente redução dos níveis de T3 e T4 (livres e totais). Este fármaco induz uma situação de hipotireoidismo secundário, pelo que o prognóstico geral do doente melhora se for instituída terapêutica de substituição com levotiroxina<sup>6,7,23</sup>.

À semelhança dos glicocorticoides, o uso de dopamina ou de bromocriptina num doente com hipotireoidismo primário dificultará o correto diagnóstico etiológico, atendendo a que a redução da concentração de HT poderá acompanhar-se de níveis normais de TSH<sup>8,23</sup>.

O uso de anfetaminas estimula a secreção de TSH, com subsequente aumento de T4 (livre e total)<sup>23</sup>.

O uso crónico de análogos da somatostatina (octreotido)/agonistas dopaminérgicos (bromocriptina) ou de antagonistas dopaminérgicos (metoclopramida) respetivamente inibe ou estimula a secreção da TSH. No entanto, a magnitude desta interferência não é suficiente para causar disfunção tiroideia<sup>6,8,9</sup>.

#### *Fármacos que competem com as hormonas tiroideias pela ligação à globulina ligadora da tiroxina*

As doses habitualmente prescritas de furosemida não se associam a interferência no estudo da função analítica. Doses elevadas (nomeadamente superiores a 80 mg de furosemida, administradas por via intravenosa) vão mobilizar a T4 ligada à TBG, gerando um efeito transitório de redução da T4 total e elevação da T4 livre (o aumento da fração livre pode atingir os 30%). Estas alterações são temporárias, persistindo apenas enquanto o fármaco permanece em circulação. Situações de hipoalbuminemia (a albumina liga-se à furosemida, tamponando as suas ações) amplificam os efeitos supracitados<sup>7,8,11,23</sup>.

Os salicilatos (em doses superiores a 2 g diários) também condicionam alterações transitórias dos parâmetros da função tiroideia similares aos induzidos pela furosemida. O aumento da fração de T4 livre pode ser da ordem dos 100%<sup>7,8,11</sup>.

O diclofenac e o ácido mefenâmico promovem a transferência da T4 ligada à TBG para a fração livre em circulação, elevando os níveis da T4L em cerca de 7 e 31%, respetivamente<sup>11,25</sup>.

O uso crónico de heparina (não fracionada ou de baixo peso molecular) vai ativar a lipase lipoproteica endotelial e a lipase hepática *in vivo*, estimulando a produção de AGL a partir dos triglicéridos séricos, que perdura *in vitro* (durante o armazenamento e incubação da amostra). Os AGL vão deslocar as HT ligadas às proteínas transportadoras, aumentando os níveis de T3 e T4 livres, que exercem retrocontrolo negativo sobre a TSH (normal-baixa). Estas alterações são mais notórias em doentes com concentrações reduzidas de albumina e maior produção *in vitro* de AGL<sup>1,8,15,23,26</sup>.

A magnitude da lipólise e elevação dos AGL depende do hiato temporal entre a administração de heparina e colheita sanguínea (efeito de lipólise *in vivo* máximo para intervalos entre as 3 e as 24 horas), da concentração de triglicéridos e do período de tempo entre a punção venosa e a realização da análise (repercussão significativa se atraso superior a 24-48 horas, com maior duração da lipólise *in vitro*). Normalmente, a elevação dos AGL só tem impacto sobre o doseamento das HT quando o tempo de ativação máxima da lipólise pela heparina se conjuga com atraso notório na análise laboratorial<sup>26</sup>.

Quando é imprescindível o doseamento das frações livres das HT em doentes sob terapêutica com heparina, recomenda-se que o sangue seja colhido depois de terem decorrido 10 horas desde a última administração (24 horas se toma diária única), armazenado a 4 °C e o doseamento efetuado em menos de 24 horas<sup>26</sup>.

#### **Fatores de interferência metodológicos**

O doseamento da TSH é realizado através de uma técnica imunométrica/«sandwich», não competitiva, com recurso a 2 anticorpos (de captação e deteção) dirigidos a diferentes epitopos da molécula. Numa fase inicial, o soro do doente é incubado com um anticorpo monoclonal antiTSH acoplado a um suporte sólido (gel de adsorção, esferas, tubos ou micropartículas magnéticas), seguindo-se uma etapa de «lavagem», que elimina as moléculas de TSH que não se ligaram. Numa fase subsequente, é adicionado um segundo anticorpo mono ou policlonal antiTSH marcado que estabelece ligação com o complexo TSH/primeiro anticorpo/fase sólida. Posteriormente, é realizada nova «lavagem» que remove o anticorpo marcado livre. Os níveis de TSH são determinados através da quantificação indireta (com recurso a curva de calibração) do anticorpo marcado que estabeleceu ligação com a TSH (relação de proporcionalidade direta)<sup>2-6,9,15</sup>.

Os imunoensaios de 3.<sup>a</sup> geração da TSH foram desenvolvidos na década de 90, com recurso a métodos de fluorescência, quimioluminescência ou enzimáticos (associados à emissão de um sinal não-radioativo). A sensibilidade funcional (concentração mais

baixa para a qual a técnica apresenta um coeficiente de variação inferior a 20%, correspondendo ao limite de deteção do parâmetro em análise) destes imunoensaios é da ordem das 0,01 mUI/L. As recomendações para o estudo da função tiroideia de sociedades científicas americanas e britânicas sugerem o recurso a métodos de doseamento da TSH com uma sensibilidade funcional igual ou inferior a 0,02 mUI/L<sup>1,2,4-6,27</sup>.

Os resultados obtidos por esta técnica podem ser influenciados pela presença de anticorpos heterófilos, fator reumatoide e antiTSH (macroTSH), sendo geralmente falsamente elevados. Num doente em fase de tirotoxicose que apresente este tipo de fatores de interferência metodológica, e na medida em que a TSH não estará frenada, o estudo laboratorial poderá induzir o médico em erro a pesquisar as hipóteses de tirotofinoma ou síndrome de resistência às HT<sup>2,3,15</sup>.

O doseamento da forma livre das HT por imunoensaio pode ser efetuado por técnica com análogo (técnica de passo duplo ou único) ou com anticorpo marcado<sup>1</sup>.

No imunoensaio de passo único é utilizado um análogo das HT marcado (teoricamente sem afinidade de ligação pelas proteínas transportadoras séricas do doente) que compete com a T3/T4 livre pela ligação a uma quantidade reduzida de anticorpos ligados ao meio sólido. Depois da fase de incubação, sucede-se uma etapa de «lavagem». Posteriormente o análogo é quantificado, apresentando uma concentração inversamente proporcional à da T3/T4 livre do soro do doente<sup>1,2,4</sup>.

O imunoensaio de passo duplo implica uma primeira etapa em que o soro do doente é incubado com anticorpos anti-T3 ou anti-T4 de elevada afinidade acoplados a suporte sólido, que promovem a separação de uma pequena proporção da fração livre da T3 ou da T4, respetivamente. Ocorre então um passo intermédio de «lavagem» que elimina a HT não ligada. Na segunda etapa é adicionada uma HT (ou análogo) marcada (por fluorescência, quimioluminescência ou radioatividade) em quantidade suficiente para se ligar aos anticorpos livres. Segue-se um novo passo de «lavagem» para remover o antigénio marcado não ligado. O análogo ligado aos anticorpos é quantificado, sendo a sua concentração inversamente proporcional à de T3/T4 livre da amostra. A primeira fase de lavagem permite minimizar a interferência da concentração de proteínas transportadoras e da presença de autoanticorpos sobre o análogo marcado adicionado numa fase posterior<sup>1-4,11,28</sup>.

Na fase inicial do imunoensaio com anticorpo marcado o soro do doente é incubado com o anticorpo marcado em fase líquida. Posteriormente é adicionada uma hormona/complexo proteico (fixo em meio sólido) que apresenta afinidade e compete pela ligação aos anticorpos marcados livres mas não às proteínas transportadoras séricas. Neste método, a concentração de anticorpo marcado ligado à fase sólida é inversamente proporcional à concentração da fração livre de HT da amostra<sup>4,6</sup>.

#### Autoanticorpos

Esta classe de anticorpos engloba os anticorpos antitiroglobulina, antitiroperoxidase, antirreceptor de TSH, anti-T4 e anti-T3<sup>8,28</sup>.

Os anticorpos anti-T4 e/ou anti-T3, apesar de raros, podem condicionar interferência imunológica no doseamento das HT. Estão presentes em menos de 1,8% da população geral e entre 1-10% dos doentes com patologia autoimune (tiroideia ou não)<sup>8,28</sup>.

A repercussão da presença de anticorpos anti-T4 e/ou anti-T3 sobre o doseamento de HT depende do método de imunoensaio (passo único ou duplo, uso de análogo ou HT marcada)<sup>28</sup>.

A opção por uma técnica de imunoensaio de passo duplo (inclui etapas de «lavagem» intermédia) garante a eliminação da maioria dos autoanticorpos presentes na amostra, minimizando essa interferência. No imunoensaio de passo único observa-se contacto direto entre o soro do doente (e dos autoanticorpos presentes) e o antigénio marcado, com subsequente aumento da

probabilidade de interferência no doseamento de HT. Os anticorpos anti-T3 e/ou anti-T4 demonstram maior afinidade pelos análogos marcados comparativamente com as HT exógenas marcadas, pelo que o risco de interferência é superior quando o imunoensaio é realizado com recurso a análogos (valores espuriamente elevados)<sup>28</sup>.

A influência da presença de anticorpos anti-T3 e/ou anti-T4 sobre os doseamentos de HT depende do título, especificidade e afinidade dos autoanticorpos. Pelas referidas condicionantes, raramente a presença destes anticorpos se constitui como fator de interferência que influencie os resultados dos doseamentos hormonais<sup>28</sup>.

Perante a discordância entre os doseamentos de HT e o quadro clínico do doente, justifica-se a pesquisa de fatores de interferência, nomeadamente metodológicos. No sentido de se confirmar se as alterações analíticas detetadas são atribuíveis à presença dos anticorpos supracitados, deve-se proceder à determinação da TSH e repetir os doseamentos das HT por método comparativo (ex.: diálise de equilíbrio). Para eliminar a interferência destes anticorpos, podemos proceder à depleção de imunoglobulinas por cromatografia de filtração em gel com proteína G, radioimunoprecipitação ou precipitação com polietilenoglicol<sup>28</sup>.

#### Anticorpos heterófilos

Os anticorpos heterófilos são inespecíficos e têm como alvo as imunoglobulinas animais utilizadas em imunoensaios (ex.: de murganho, ovelha, coelho), podendo ocorrer em cerca de 0,2-15% da população geral<sup>8,25,28</sup>.

O doente desenvolve anticorpos heterófilos após contacto direto (dieta, vacina, zoonose, animais de estimação, pecuária) ou indireto (transfusão) com uma espécie animal. Geralmente estabelecem uma ligação de reduzida afinidade entre o anticorpo de captura e o de deteção presentes no ensaio (técnica de «sandwich»), originando um falso sinal na ausência do antigénio (TSH) que se pretende dosear. No entanto, os mesmos anticorpos podem ligar-se ao anticorpo de captura e modificar a sua conformação, impedindo a ligação da molécula em análise e induzindo resultados espuriamente baixos<sup>1,8,25,28-30</sup>.

Estão descritos alguns casos em que os anticorpos heterófilos interferiram, para além da TSH, com os doseamentos das HT (valores falsamente elevados de T3, T3L, T4 e T4L)<sup>28,30</sup>.

Para eliminar esta interferência podem adicionar-se ao reagente imunoglobulinas classe G da espécie contra a qual os anticorpos heterófilos são dirigidos. Deste modo, formam-se complexos imunoglobulina-anticorpo heterófilo, reduzindo a quantidade de anticorpos heterófilos disponível para interagir com os anticorpos que fazem parte do imunoensaio. Outra alternativa seria utilizar anticorpos de captura e deteção de outra espécie (relativamente à qual o doente não tivesse contactado e desenvolvido anticorpos heterófilos)<sup>28-30</sup>.

#### Fator reumatoide

Este anticorpo é detetado em cerca de 70% dos doentes com artrite reumatoide. A sua presença foi também descrita nouro tipo de doenças autoimunes<sup>28,31</sup>.

O fator reumatoide liga-se especificamente a anticorpos humanos e, com menor afinidade, a imunoglobulinas de outras espécies. Esta reatividade cruzada justifica a interferência em imunoensaios, particularmente na técnica de «sandwich» para o doseamento da TSH<sup>28</sup>.

Verificaram-se alguns casos de interferência do fator reumatoide sobre o doseamento da T4L, por imunoensaio. Estes doentes apresentavam-se clinicamente em eutiroidismo, com níveis de TSH, T3L e T4 total maioritariamente dentro do intervalo de referência. O doseamento de T4L correlacionou-se diretamente com os títulos de

**Tabela 2**  
Interpretação do estudo da função tiroideia

T3 e/ou T4	TSH		
	↓	N	↑
↓	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hipotiroidismo central</li> <li>Deficiência isolada da TSH</li> <li>NTIS (fase aguda)</li> <li>Estado de jejum prolongado (T4L ↑ fase inicial)</li> <li>Sépsis</li> <li>Fármacos               <ul style="list-style-type: none"> <li>Glicocorticoides</li> <li>Dopamina</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hipotiroidismo central</li> <li>NTIS</li> <li>↓ da concentração ou afinidade da TBG               <ul style="list-style-type: none"> <li>Síndrome nefrótica</li> <li>Cirrose (eventualmente T4L ↑)</li> <li>Androgénios</li> <li>L-asparaginase</li> <li>Danazol</li> <li>Ácido nicotínico</li> <li>Deficiência hereditária total ou parcial da TBG</li> </ul> </li> <li>Fármacos               <ul style="list-style-type: none"> <li>Propranolol</li> <li>Fenitoína</li> <li>Carbamazepina</li> <li>Fenobarbital</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hipotiroidismo primário</li> <li>Hipotiroidismo central (raro)</li> <li>NTIS</li> <li>Insuficiência renal crónica</li> <li>Não adesão ao tratamento com levotiroxina</li> <li>Estados de malabsorção</li> <li>Cirurgia intestinal</li> <li>Fármacos               <ul style="list-style-type: none"> <li>Sulfato ferroso</li> <li>Carbonato de cálcio</li> <li>Hidróxido de alumínio</li> <li>Sucralfato</li> <li>Colestiramina</li> </ul> </li> </ul>
N	<ul style="list-style-type: none"> <li>Início recente de tratamento de tirotoxicose</li> <li>Hipertiroidismo subclínico</li> <li>Octreotido</li> <li>Bromocriptina</li> <li>Anticorpos heterófilos (raramente)</li> <li>Dose supratrapêutica de levotiroxina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eutiroidismo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hipotiroidismo subclínico</li> <li>Início recente de tratamento de hipotiroidismo</li> <li>Não adesão ao tratamento com levotiroxina (hipotiroidismo subclínico prévio)</li> <li>Toma irregular de levotiroxina; dose infraterapêutica</li> <li>Metoclopramida</li> <li>Anticorpos heterófilos (raramente com ↑ T3/T4)</li> <li>Fator reumatoide (raramente com ↑ T4L)</li> <li>MacroTSH</li> </ul>
↑	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tirotoxicose</li> <li>Doença psiquiátrica aguda</li> <li>Heparina (TSH N/↓)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Doença psiquiátrica aguda</li> <li>↑ da concentração ou afinidade da TBG/transstiretina               <ul style="list-style-type: none"> <li>Hepatite aguda</li> <li>Hepatite autoimune ativa</li> <li>Cirrose biliar primária</li> <li>Infeção por VIH (eventualmente T3 ↓ em fases avançadas)                   <ul style="list-style-type: none"> <li>Carcinoma hepatocelular</li> <li>Tumor endócrino do pâncreas</li> <li>Excesso hereditário de TBG</li> <li>Hipertiroxinemia disalbuminémica familiar</li> <li>Hipertiroxinemia associada à transtiretina</li> </ul> </li> <li>Competição pela ligação à TBG (↑ apenas frações livres)                   <ul style="list-style-type: none"> <li>Furosemida</li> <li>Salicilatos</li> <li>Diclofenac</li> <li>Ácido mefenâmico</li> </ul> </li> <li>Tratamento crónico com amiodarona (↑ T4)</li> <li>Anticorpos anti-T3 e/ou anti-T4 (imunoensaio de passo único)</li> <li>Fator reumatoide</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tirotrofinoma</li> <li>Síndrome de resistência às hormonas tiroideias</li> <li>Omissão frequente da toma de levotiroxina, com sobredosagem nos dias que antecedem o doseamento</li> <li>Anfetaminas</li> <li>Amiodarona (fase inicial)</li> <li>Agentes de contraste</li> </ul>

NTIS: non-thyroidal illness syndrome.

Nota: nos casos em que as alterações dos parâmetros analíticos decorrem de fatores de interferência, foi assumido que o doente não apresentava disfunção tiroideia prévia.

fator reumatoide (falsamente elevado); o valor de T4L normalizava quando se recorria ao método de diálise de equilíbrio<sup>1,31</sup>.

O impacto do fator reumatoide pode ser reduzido pela adição de imunoglobulinas humanas ou animais à amostra do paciente ou pela precipitação com polietilenoglicol<sup>28,31</sup>.

#### Marotirotropina

O doseamento da TSH é efetuado por intermédio de um imunoensaio não competitivo, com recurso a um anticorpo de captura e outro de deteção<sup>32</sup>.

Doentes com antecedentes de doença autoimune da tiroide ou de administração de TSH bovina podem desenvolver anticorpos antiTSH. A presença destas imunoglobulinas também foi descrita em indivíduos em quem não se verificava nenhuma das 2 condições

previamente enumeradas, pelo que se admite existirem mais fatores desencadeantes ainda não identificados<sup>32,33</sup>.

Está descrita a transmissão materno-fetal de anticorpos antiTSH, que podem persistir em circulação durante 8 meses e induzir erros no rastreio neonatal de hipotiroidismo congénito. Em recém-nascidos aparentemente em eutiroidismo com elevação da TSH, deve-se proceder ao estudo da função tiroideia da mãe. Caso esta apresente um padrão analítico similar, torna-se imprescindível excluir a hipótese de macroTSH de modo a evitar uma situação de tirotoxicose iatrogénica no lactente<sup>33</sup>.

Os anticorpos antiTSH vão agregar as moléculas de TSH, originando formas de alto peso molecular que não são depuradas por via renal. A acumulação de macroTSH em circulação condiciona doseamentos de TSH falsamente elevados, à semelhança do que se verifica em situações de macroprolactinemia. Os referidos

anticorpos neutralizam a atividade biológica da hormona (evitando situações de tirotoxicose clínica), mas permitem que determinados epitopos da molécula de TSH permaneçam acessíveis aos anticorpos de captura e deteção. A presença de moléculas de TSH de alto peso molecular pode ser confirmada através da precipitação de soro com polietilenoglicol, da cromatografia em coluna de gel de filtração ou de diluições seriadas da amostra<sup>15,25,32,33</sup>.

Após precipitação com polietilenoglicol, que permite remover proteínas de elevado peso molecular (nomeadamente macroTSH), apenas é detetada uma reduzida fração da TSH doseada inicialmente. Se diluições seriadas da amostra revelam doseamentos paradoxalmente crescentes (fenómeno de não-linearidade), torna-se necessário identificar o fator de interferência implicado (macroTSH, anticorpos heterófilos, fator reumatoide). A cromatografia em coluna de filtração, ao demonstrar a presença de um pico de imunorreatividade para TSH de alto peso molecular, confirma o diagnóstico de macroTSH. Os doseamentos de TSH nestes doentes apresentam significativa variabilidade intermétodo, o que é atribuível a afinidades distintas dos anticorpos empregues pela molécula de macroTSH (ou pelos anticorpos heterófilos)<sup>32,33</sup>.

Este fator de interferência deve ser equacionado em doentes com valores de TSH muito elevados e incongruentes com os níveis de T4 livre e ausência de sintomas<sup>32,33</sup>.

### Interpretação do estudo da função tiroideia

A maioria dos indivíduos encontra-se em eutiroidismo. Nos restantes casos, o diagnóstico é habitualmente fácil de estabelecer. Nesta secção são descritos padrões analíticos cuja interpretação nem sempre é óbvia<sup>34</sup>.

#### *Elevação da T3/T4 livre(s) com TSH normal ou elevada*

Para excluir a hipótese de um fator de interferência metodológico ter contribuído para o padrão supracitado, deve-se proceder à repetição do doseamento da T3/T4 (por imunoensaio de passo duplo ou diálise de equilíbrio) e à confirmação da redução linear da TSH em diluições sucessivas (fenómeno de paralelismo). Deve ser ainda avaliada a possibilidade de existir um fármaco ou um estado patológico que influencie os doseamentos hormonais. Por fim, se nenhum dos procedimentos prévios tiver elucidado a etiologia das alterações laboratoriais detetadas, devem ser equacionadas as hipóteses de tirotrofinoma e de síndrome de resistência às HT (SRHT)<sup>15,34</sup>.

No sentido de estabelecer o diagnóstico diferencial entre tirotrofinomas e SRHT, podemos recorrer à determinação da relação subunidade  $\alpha$ /TSH, prova da TRH, RM hipofisária, estudo genético e história familiar<sup>15,35</sup>.

Os tirotrofinomas associam-se a elevação da razão subunidade  $\alpha$ /TSH ( $> 1$ ). A resposta à prova da TRH está diminuída, com aumento da TSH inferior a 150% do valor basal (por oposição, na SRHT a resposta será normal ou exponencialmente aumentada). A realização da RM hipofisária permite a identificação de adenoma (maioritariamente macroadenomas). A presença de microadenoma hipofisário não permite excluir definitivamente a hipótese de SRHT, na medida em que a lesão pode corresponder a um incidentaloma hipofisário não funcionante coincidente<sup>15,34,35</sup>.

A SRHT é causada por mutação *de novo* em cerca de 25% dos doentes; nos restantes é possível determinar alterações do estudo da função tiroideia nos familiares em 1.º grau (doença autossómica dominante). O estudo do gene *THRB* permite identificar a mutação em 85% dos doentes com SRHT, pelo que a ausência de mutação não significa que a hipótese de tirotrofinoma seja mais provável. São raros os casos de tirotrofinomas familiares enquadráveis no contexto de neoplasia endócrina múltipla tipo 1<sup>15,34,35</sup>.

#### *Diminuição da T3/T4 livre(s) com TSH normal ou baixa*

A situação mais frequentemente associada ao padrão analítico supracitado é a NTIS. Na ausência de doença grave concomitante, devem ser equacionadas hipóteses de diagnóstico mais raras, nomeadamente o hipotiroidismo central e a deficiência isolada de TSH. Neste contexto estará indicado proceder ao estudo hormonal e imagiológico hipofisário<sup>34</sup>.

Doentes com hipotiroidismo de origem hipotalâmica ou hipofisária podem exibir níveis de TSH baixos ou inapropriadamente normais ou elevados, com perda do ritmo circadiano de secreção. A justificação para níveis aumentados de TSH (o que ocorre em 15% dos casos de hipotiroidismo central) reside no facto de esta hormona poder apresentar anomalias da glicosilação que a tornam menos bioativa mas prolongam a sua semivida e preservam a imunorreatividade que permite a sua deteção analítica. A atividade biológica da molécula de TSH parece ser inversamente proporcional ao seu grau de glicosilação<sup>3,8</sup>.

A tabela 2 resume as associações possíveis e respetiva interpretação em função dos resultados do estudo da função tiroideia.

### Conclusão

Quando se verifica discrepância entre as manifestações clínicas e os resultados analíticos, torna-se necessário reavaliar a história clínica do doente e verificar se os antecedentes patológicos, hábitos medicamentosos ou eventual consumo de estupefacientes podem justificar as alterações encontradas.

Neste contexto, o estudo da função tiroideia deve ser repetido optando pelo recurso a métodos sensíveis (TSH de 3.ª geração; diálise de equilíbrio para doseamento de T4 livre) e/ou comparativos (se necessário, através da colaboração de outro laboratório). Perante a suspeita de interferência no doseamento de T3 e/ou T4 livres, a T3 e T4 totais devem ser também determinadas, de modo a excluir um número significativo de fatores que raramente influenciam com a mesma magnitude (e eventualmente no mesmo sentido) o doseamento da concentração total ou da fração livre das HT. Sempre que possível optar por técnicas analíticas que eliminem ou identifiquem os fatores de interferência.

Um fator de interferência ignorado pode originar erros na interpretação do estudo da função tiroideia, o que por sua vez condicionará processos de investigação desnecessários e atitudes terapêuticas inadequadas. Os riscos e custos inerentes a esta situação não são desprezáveis, pelo que se impõe que a interpretação do estudo da função tiroideia tenha em consideração o enquadramento clínico do doente e os métodos analíticos empregues.

### Responsabilidades éticas

**Proteção de pessoas e animais.** Os autores declaram que para esta investigação não se realizaram experiências em seres humanos e/ou animais.

**Confidencialidade dos dados.** Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

**Direito à privacidade e consentimento escrito.** Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

### Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Bibliografia

- Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, et al., Guidelines Committee. National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid*. 2003;13(1):3–126.
- Morovat A. Methods for the investigation of thyroid function. *Methods Mol Biol*. 2013;1065:75–104.
- Dufour DR. Laboratory tests of thyroid function: uses and limitations. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2007;36(3):579–94.
- Assay of Thyroid Hormones and Related Substances. 2013 [acessado em 23 de novembro de 2013]. Disponível em: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/assay-of-thyroid-hormones-and-related-substances/>.
- Squire CR. Methods for the investigation of thyroid function. *Methods Mol Biol*. 2006;324:91–108.
- Pimentel L, Hansen KN. Thyroid disease in the emergency department: a clinical and laboratory review. *J Emerg Med*. 2005;28(2):201–9.
- Adler SM, Wartofsky L. The nonthyroidal illness syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2007;36(3):657–72.
- Graf H, Carvalho GA. Fatores interferentes na interpretação de dosagens laboratoriais no diagnóstico de hiper e hipotireoidismo. [Laboratory interfering factors in the diagnosis of hyper and hypothyroidism]. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002;46(1):51–64. Portuguese.
- Cooper DS, Ladenson PW. The Thyroid Gland. In: Gardner DG, Shoback D, editors. *Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology*. 9<sup>th</sup> edition McGraw-Hill companies; 2011. p. 163–226.
- Cohen-Lehman J, Dahl P, Danzi S, Klein I. Effects of amiodarone therapy on thyroid function. *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6(1):34–41.
- Stockigt JR. Free thyroid hormone measurement. A critical appraisal. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2001;30(2):265–89.
- Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid*. 2000;10(2):141–9. Erratum in: *Thyroid* 2000;10(4):372.
- Bartalena L, Robbins J. Variations in thyroid hormone transport proteins and their clinical implications. *Thyroid*. 1992;2(3):237–45.
- Deventer HE, Mendu DR, Remaley AT, Soldin SJ. Inverse log-linear relationship between thyroid stimulating hormone and free thyroxine measured by direct analog immunoassay and tandem mass spectrometry. *Clin Chem*. 2011;57(1):122–7.
- Gurnell M, Halsall DJ, Chatterjee VK. What should be done when thyroid function tests do not make sense? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(6):673–8.
- Yazbeck CF, Sullivan SD. Thyroid disorders during pregnancy. *Med Clin North Am*. 2012;96(2):235–56.
- Lazarus JH. Thyroid function in pregnancy. *Br Med Bull*. 2011;97:137–48.
- Leung AM. Thyroid function in pregnancy. *J Trace Elem Med Biol*. 2012;26(2–3):137–40.
- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid*. 2011;21(10):1081–125.
- Stagnaro-Green A, Pearce E. Thyroid disorders in pregnancy. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(11):650–8.
- De Groot L, Abalovich M, Alexander EK, Amino N, Barbour L, Cobin RH, et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(8):2543–65.
- Kahric-Janjic N, Soldin SJ, Soldin OP, West T, Gu J, Jonklaas J. Tandem mass spectrometry improves the accuracy of free thyroxine measurements during pregnancy. *Thyroid*. 2007;17(4):303–11.
- Cavaliere RR. The effects of nonthyroid disease and drugs on thyroid function tests. *Med Clin North Am*. 1991;75(1):27–39.
- Warner MH, Beckett GJ. Mechanisms behind the non-thyroidal illness syndrome: an update. *J Endocrinol*. 2010;205(1):1–13.
- Clark PM, Gordon K. Challenges for the endocrine laboratory in critical illness. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(5):847–59.
- Stevenson HP, Archbold GP, Johnston P, Young IS, Sheridan B. Misleading serum free thyroxine results during low molecular weight heparin treatment. *Clin Chem*. 1998;44(5):1002–7.
- UK Guidelines for the Use of Thyroid Function Tests. 2006:1–86 [acessado em 23 de novembro de 2013]. Disponível em: [http://www.british-thyroid-association.org/info-for-patients/Docs/TFT\\_guideline\\_final\\_version\\_July\\_2006.pdf](http://www.british-thyroid-association.org/info-for-patients/Docs/TFT_guideline_final_version_July_2006.pdf).
- Després N, Grant AM. Antibody interference in thyroid assays: a potential for clinical misinformation. *Clin Chem*. 1998;44(3):440–54.
- Vieira JG. Avaliação dos potenciais problemas pré-analíticos e metodológicos em dosagens hormonais. [Evaluating potential pre-analytical and methodological interference factors in hormone measurements]. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002;46(1):9–15. Portuguese.
- Chin KP, Pin YC. Heterophile antibody interference with thyroid assay. *Intern Med*. 2008;47(23):2033–7.
- Norden AG, Jackson RA, Norden LE, Griffin AJ, Barnes MA, Little JA. Misleading results from immunoassays of serum free thyroxine in the presence of rheumatoid factor. *Clin Chem*. 1997;43(6):957–62.
- Vieira JG, Maciel RM, Hauache OM, Nishida SK, Boelter DM, Pinheiro MF. Valores inesperadamente elevados de TSH: a presença de formas de alto peso molecular (“Macro TSH”) deve ser investigada. [Unexpected high values of TSH: the presence of high molecular weight forms (macro TSH) must be investigated]. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50(3):445–9. Portuguese.
- Loh TP, Kao SL, Halsall DJ, Toh SA, Chan E, Ho SC, et al. Macro-thyrotropin: a case report and review of literature. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(6):1823–8.
- Dayan CM. Interpretation of thyroid function tests. *Lancet*. 2001;357(9256):619–24.
- Beck-Peccoz P, Persani L. Thyrotropinomas. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37(1):123–34.