

Fatores Interferentes na Interpretação de Dosagens Laboratoriais no Diagnóstico de Hiper e Hipotireoidismo

revisão

RESUMO

Desde os primeiros relatos na literatura médica, descrevendo os quadros clínicos de hiper e hipotireoidismo, muito pouco mudou no cenário da semiologia destas entidades e mesmo na sua abordagem terapêutica. As mudanças que assistimos nos últimos anos se relacionam às ferramentas laboratoriais utilizadas no diagnóstico destas disfunções. Paralelamente a estes desenvolvimentos, passamos a entender melhor os fatores que interferem na interpretação das dosagens laboratoriais no diagnóstico do hiper e hipotireoidismo. Neste artigo avaliaremos a utilização das medidas séricas de TSH e dos hormônios tireoideanos, bem como as armadilhas e interferências encontradas no seu uso cotidiano. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/1:51-64)

Descritores: Hipertireoidismo; Hipotireoidismo; TSH; Hormônios tireoideanos; Interferentes.

ABSTRACT

Laboratory Interfering Factors in the Diagnosis of Hyper and Hypothyroidism.

Since the first reports in the medical literature describing the clinical presentation of hypo and hyperthyroidism, very little has changed on the semiologic scenario of these entities and even in their therapeutic approach. The changing trends refer much more to the tools used to diagnose thyroid disease. In parallel with these developments, we understand much better about the factors that interfere in the interpretation of thyroid function tests in the diagnosis of hyper and hypothyroidism. In this article, we analyzed the utility of serum TSH and thyroid hormone measurements, as well the pitfalls and interferences in its common daily use. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/1:51-64)

Keywords: Hyperthyroidism; Hypothyroidism; TSH; Thyroid hormones; Interferents.

DOSAGEM DO HORMÔNIO TIREOESTIMULANTE (TSH) E FATORES INTERFERENTES NA SUA AVALIAÇÃO

O TSH é um hormônio pertencente à família dos hormônios glicoprotéicos que inclui o hormônio luteinizante (LH), o folículo-estimulante (FSH) e a gonadotrofina coriônica humana (HCG). O TSH compartilha com esta família a mesma sub-unidade alfa, tendo uma sub-unidade beta específica. A secreção hipofisária de TSH regula a secreção de T₄ (tiroxina) e T₃ (triiodotironina), que por sua vez exercem *feed-back* negativo no tireotrofo hipofisário, numa relação log-linear e que tem seu *set-point* geneticamente determinado (1,2). T₄ é convertido a T₃ nos tireotrofos hipofisários, sob ação da 5'-desiodase tipo 2, após o que o T₃ se liga a seu receptor nuclear, inibindo a transcrição de TSH (3). Desta forma, quando a função hipotálamo-hipofisária está intacta, pequenas alterações nas concentrações dos hormônios tireoideanos livres resultam em grandes alterações nas concentrações séricas de

Hans Graf
Gisah Amaral Carvalho

*Serviço de Endocrinologia e Metabologia da
Universidade Federal do Paraná
(SEMPR), Curitiba, PR*

*Recebido em 22/11/01
Aceito em 20/12/01*

TSH, tomando o TSH o melhor indicador de alterações discretas da produção tireoideana. A secreção do TSH é pulsátil e possui um ritmo circadiano com os pulsos de secreção ocorrendo entre 22hs e 4hs da madrugada, sendo seus níveis médios entre cerca de 1,3 e 1,4mU/L, com limites inferiores entre 0,3 e 0,5mU/L e limites superiores entre 3,9 e 5,5mU/L (4,5). Variações na concentração sérica de TSH podem ser atribuídas a esta secreção pulsátil e a liberação noturna do TSH.

A sensibilidade dos ensaios de primeira geração para TSH permitiam apenas o diagnóstico de hipotireoidismo. Nos anos recentes a utilidade das medidas do TSH aumentou de forma marcante devido ao desenvolvimento de metodologias imunométricas para sua quantificação acurada (6). Com a utilização dos ensaios de TSH de segunda geração (sensibilidade funcional de 0,1 a 0,2mU/L) e de terceira geração (sensibilidade funcional de 0,01 a 0,02mU/L), foi possível a sua utilização também na detecção do hipertireoidismo, tornando-se a dosagem do TSH o teste mais útil na avaliação da função tireoideana. Os ensaios de terceira geração do TSH apresentam algumas vantagens sobre os de segunda geração: 1. distinguem o TSH supresso na doença não tireoideana entre pacientes hipertireóides e pacientes eutireóides; 2. permitem a redução precisa da dose necessária de T₄ para manter a supressão tireoideana e; 3. distinguem a severidade do hipertireoidismo sub-clínico (7).

A mensuração do TSH tem sido utilizada como triagem no diagnóstico de disfunção tireoideana, especialmente do hipotireoidismo não suspeitado. A Associação Americana de Tireóide recomenda a dosagem de TSH a cada 5 anos para pessoas > 35 anos de idade (8). Em função do hipotireoidismo não detectado na gravidez poder afetar o desenvolvimento neuropsicomotor (9) e a sobrevivência do feto (10), além de se acompanhar de hipertensão e toxemia (11), também tem sido advogada a dosagem de rotina do TSH em mulheres grávidas (12). A triagem também é apropriada para pacientes com risco aumentado de disfunção tireoideana, como pacientes que recebem lítio, amiodarona, citoquinas, radiação ao pescoço ou que tenham outras doenças imunes, hipercolesterolemia, apnéia do sono, depressão ou demência (13). Em todas estas situações, deve-se confirmar a elevação de TSH, antes de iniciar a reposição com tiroxina. Vários trabalhos têm mostrado que a concentração de TSH reflete adequadamente a reposição de T₄ em pacientes com hipotireoidismo (14). Apesar disto, em diversas situações não se pode depender apenas da dosagem do TSH na avaliação da função tireoideana, que pode apresentar algumas limitações no seu uso (13).

Situações especiais na dosagem de TSH

Estado tireoideano "instável"

Em pacientes com hipertireoidismo ou hipotireoidismo crônico e severo, o TSH pode permanecer alterado apesar da normalização dos níveis livres de hormônios tireoideanos. Nestas situações, que podem levar de dois meses até 1 ano após a normalização dos níveis hormonais de T₃ e T₄, a dosagem do TSH pode não indicar adequadamente o estado tireoideano, em função da prévia supressão ou hipertrofia dos tireotrofos, respectivamente (2). Três semanas após o início da reposição de T₄ em um paciente com um TSH sérico muito elevado e T₄ indetectável, o TSH pode estar ainda bastante aumentado, enquanto o T₄ livre pode já ter alcançado 88% do seu estado de equilíbrio (2). Pacientes com hipertireoidismo por Doença de Graves podem apresentar uma forma de "hipotireoidismo central" algumas semanas após tratamento com drogas antitireoideanas ou ¹³¹I, caracterizado por níveis baixos de T₃ e T₄ acompanhados por níveis ainda supressos de TSH (15).

Uso irregular de tiroxina

Em pacientes com hipotireoidismo sem adesão adequada ao tratamento e que fazem uso intermitente de T₄ podemos encontrar valores discordantes de TSH e T₄ livre. Enquanto a mensuração de TSH reflete um *set-point* de 6 a 8 semanas de uso da tiroxina, a dosagem de T₄ livre reflete a adequabilidade mais recente no uso de T₄. Nestes pacientes a dosagem de TSH pode estar elevada, apesar de níveis normais ou elevados de T₄ livre (2).

Anticorpos heterofílicos

Pacientes com anticorpos heterofílicos contra imunoglobulinas de camundongo podem apresentar falsas elevações na concentração do TSH em ensaios imunométricos que utilizam anticorpos de camundongos para medir o TSH por formar falsas pontes entre a fase sólida e anticorpos sinalizadores (16). Este problema pode usualmente ser prevenido pela inclusão nos ensaios de imunoglobulinas inespecíficas de camundongo, sendo atualmente raras estas falsas elevações.

Doença hipotalâmica ou hipofisária

A dosagem isolada de TSH pode ser inadequada em pacientes com doença hipotalâmica ou hipofisária. A dosagem de TSH pode estar baixa, normal ou mesmo elevada em pacientes com hipotireoidismo central. Em um estudo de hipotireoidismo central, 35% dos valores de TSH eram sub-normais, 41% eram normais e 25%

estavam elevadas (17). Nesta situação o TSH tem atividade biológica diminuída, não tem ritmo circadiano mas mantém a sua imunoreatividade (13). A não elevação noturna do TSH ou uma resposta diminuída ou retardada do TSH ao TRH pode apontar para um hipotireoidismo central (18). A diminuição da bioatividade é parcialmente explicável por anormalidades na glicosilação do TSH, que se encontra sob o controle do TRH (19). Em pacientes com doença hipotalâmica ou hipofisária, o controle da reposição de T_4 deve ser feito unicamente pela medida dos hormônios livres, não existindo papel para o TSH sérico.

Monitorização do tratamento supressivo

Pacientes em tratamento supressivo com tiroxina para câncer de tireóide podem ser monitorados apenas com o TSH de 3ª. geração. Num estudo de 460 pacientes em uso supressivo de tiroxina, quase todos os pacientes com um TSH maior que 0,05mU/L tinham um nível sérico normal de T_4 livre (19). Apenas pacientes em terapia supressiva de TSH cujos níveis de TSH eram menores que 0,05mU/L foram beneficiados com uma dosagem simultânea de T_4 livre, uma vez que a detecção de uma hipertiroxinemia nesta situação deve sugerir redução na dose de T_4 (20).

Doença não tireoideana

Atualmente existem diversas evidências de que em períodos de doença não tireoideana severa podemos ter um real hipotireoidismo central transitório, no qual não se observam as elevações noturnas de TSH, além de evidências de glicosilação alterada do TSH, processo regulado pelo TRH, como já comentado (21). A concentração hipotalâmica de RNAm do TRH está muito reduzida em pacientes falecidos por doença não tireoideana e se correlaciona com os níveis séricos de TSH e T_3 pouco antes do óbito (22). Em um estudo de pacientes gravemente enfermos em recuperação de doença não tireoideana, a secreção pulsátil de TSH precede a normalização dos níveis de T_4 e a injeção de TRH provoca a elevação de T_3 , T_4 e TSH, sugerindo que a baixa secreção endógena de TRH pode ser de importância neste hipotireoidismo central (23,24). É ainda muito controverso se existe alguma vantagem na reposição hormonal neste hipotireoidismo central da doença não tireoideana, com algumas evidências sugerindo ser esta benéfica nesta situação transitória de hipotireoidismo (25). Finalmente na fase de recuperação da doença, os níveis de TSH podem estar transitoriamente elevados. A dosagem do TSH por um ensaio de 3ª. geração pode ajudar a discriminar um TSH diminuído de doença não tireoideana de um

TSH suprimido devido à tireotoxicose. Quase todos os pacientes com níveis subnormais mas detectáveis de TSH ($> 0,02\text{mU/L}$) estarão eutireoídeos após recuperação da doença não tireoideana, ao contrário dos pacientes com níveis indetectáveis de TSH ($< 0,02\text{mU/L}$), que se mostram tireotóxicos (26). O diagnóstico de tireotoxicose em um paciente seriamente enfermo com uma ou mais co-morbidades é um desafio, não devendo ser feito apenas com a dosagem do TSH (13).

Drogas que interferem na concentração sérica do TSH

Várias drogas de amplo uso na prática clínica, como glicocorticóides, amiodarona e propranolol bloqueiam a conversão periférica de T_4 para T_3 nos tecidos periféricos. Apesar disso, não se observa hipotireoidismo por uso crônico de compostos que apenas bloqueiam a transformação periférica de T_4 para T_3 na ausência de alterações intrínsecas da secreção hormonal tireoideana. Outros mecanismos pelos quais alguns compostos atuam incluem o metabolismo acelerado dos hormônios tireoideanos, como difenil-hidantoina e fenobarbital (27,28) ou a diminuição da absorção dos hormônios tireoideanos, como sulfato ferroso e hidróxido de alumínio (29,30). A administração concomitante de duas destas drogas pode reduzir de forma importante os níveis de T_4 com subsequente elevação do TSH. Pacientes com hipotireoidismo que fazem uso destas drogas podem necessitar um ajuste da tiroxina para manter o estado eutireoídeo.

Glicocorticóides: apresentam múltiplos efeitos na função e medidas dos hormônios tireoideanos. Seus efeitos são variáveis e múltiplos, dependendo da dose, do corticóide e da via de administração (31). Um dos efeitos bem conhecidos da ação dos glicocorticóides é a supressão da secreção do TSH (32,33). As observações da supressão da captação de ^{131}I são secundárias a esta supressão (34). Por outro lado, pacientes com insuficiência supra-renal recém-diagnosticada apresentam níveis significativamente elevados de TSH (35). Um dos problemas comuns na prática clínica é separar o efeito do glicocorticóide ou dos outros medicamentos sobre os tireotrofos hipofisários daqueles causados pela doença aguda ou crônica. O diagnóstico de um verdadeiro hipotireoidismo coexistente às vezes é praticamente impossível em função da ação supressiva sobre o TSH. Por outro lado, o uso do glicocorticóide induz uma queda rápida dos níveis hormonais em pacientes tóxicos com Doença de Graves (36).

Amiodarona: A amiodarona exerce uma série de efeitos sobre a função tireoideana, entre as quais uma

importante diminuição do T_3 e uma modesta elevação de T_4 , por uma marcada ação de inibição das enzimas 5'-desiodase do tipo 1 e 2 (37). Os níveis basais e estimulados do TSH podem estar aumentados. Além deste efeito, a amiodarona reduz a entrada do hormônio tireoideano nos tecidos (38), pode reduzir a ligação dos hormônios tireoideanos ao seu receptor (39) e antagonizar a ação hormonal a nível celular (40). A bradicardia observada no uso da droga pode sugerir hipotireoidismo (41). Em contraste com as alterações características nos testes de função tireoideana, menos freqüente é a ocorrência de franco hipotireoidismo ou tireotoxicose, como resultado da liberação de iodo pela droga, com melhora do quadro clínico com a saída do iodo da tireóide com uso do perclorato (42). Nas áreas iodo-deficientes observamos mais doenças tireoideanas, com maior incidência de tireotoxicose (43). Uma segunda forma de tireotoxicose por tireoidite destrutiva não responde a drogas anti-tireoideanas ou perclorato, mas responde a corticosteróide (42). A dosagem do TSH é o melhor teste para diferenciar o hipotireoidismo ou tireotoxicose em pacientes tratados com amiodarona.

Hormônios Sexuais: Estrogênio - Hiperestrogenismo endógeno (gravidez, mola hidatiforme, tumores produtores de Estrogênio) ou exógeno se acompanha de elevação sérica dos níveis de TBG (44). Como consequência encontramos níveis mais elevados de T_3 e T_4 . O efeito do estrogênio sobre o controle do TSH é controverso, sendo descritos tanto um efeito estimulatório (45) como inibitório (46). Embora mulheres tenham uma maior resposta do TSH ao TRH (47), a administração de doses farmacológicas de estrogênio não parece ter um efeito significativo no aumento do TSH (48). Androgênios - Diminuem a concentração de TBG e conseqüentemente os níveis de T_3 e T_4 , mas sem alterar os níveis de TSH (49).

Salicilatos: O ácido acetilsalicílico é a droga mais freqüentemente utilizada capaz de alterar os parâmetros de função tireoideana (50). Ele compete com os hormônios tireoideanos na ligação com TBG e TTR (51). Os níveis aumentados de hormônios tireoideanos podem alterar a resposta do TSH ao TRH e ter um efeito hipermetabólico (52,53).

Heparina: Pacientes em uso crônico de heparina podem ter níveis aumentados de hormônios tireoideanos livres, com diminuição recíproca de TSH (54). Acredita-se que este efeito seja pela ativação da lipase lipoprotéica, aumentando os níveis de ácidos graxos que podem deslocar T_4 da sua ligação protéica (54,55).

Contrastes iodados: O principal efeito de alguns contrastes radiológicos é a inibição da conversão pe-

riférica de T_4 para T_3 pela inibição das 5'-desiodases tipo 1 e tipo 2, representando os agentes mais potentes nesta ação periférica. Vários destes agentes como ipodato (Oragrafina) e ácido iopanóico (Telepaque) são utilizados como agentes orais para colecistografia (56). A diminuição dos níveis séricos e da geração hipofisária de T_3 se acompanha de uma elevação na secreção de TSH (57). Assim como a amiodarona, estes contrastes iodados também diminuem a ligação do T_3 a seu receptor, permitindo o uso destas medicações em situações clínicas como tireotoxicose por uso exógeno de hormônio tireoideano (58,59).

Anticonvulsivantes: Difenilhidantoina - possui uma ação dupla sobre os hormônios tireoideanos. Além de competir pela ligação com a TBG, acelera o metabolismo hepático de T_4 e T_3 (60), levando a uma diminuição dos seus níveis séricos sem, entretanto, alterar de forma significativa os níveis basais ou estimulados de TSH (61). O encontro de níveis reduzidos de hormônios tireoideanos em pacientes com níveis séricos terapêuticos de difenilhidantoina não devem ser interpretados como disfunção tireoideana, a menos que os níveis de TSH estejam elevados. Fenobarbital - Aumenta o metabolismo hepático dos hormônios tireoideanos e a eliminação fecal de T_4 , podendo seus efeitos clínicos ter importância clínica quando utilizado em conjunto com difenilhidantoina e carbamazepina (62,63).

Propranolol: agente bloqueador beta-adrenérgico, comumente utilizado como tratamento adjuvante na tireotoxicose e no tratamento de arritmias cardíacas, angina e hipertensão. Tem sido descrito um efeito discreto do propranolol no bloqueio periférico de T_4 para T_3 , sem alteração nos níveis séricos de TSH (64).

Dopamina: Acredita-se que a dopamina exerça um papel fisiológico na regulação da secreção do TSH, atuando no eixo hipotálamo-hipofisário (65,66). A dopamina é de uso comum em pacientes hipotensos agudamente enfermos. Tanto ela como seu precursor, a l-dopa ou a bromocriptina inibem diretamente a secreção de TSH, podendo normalizar os elevados níveis de TSH de pacientes hipotireóides, suprimir os níveis de TSH de pacientes eutireóides e bloquear a resposta do TSH ao TRH (67,68). O mecanismo de ação das drogas dopaminérgicas é através de uma interação direta com os seus receptores nos tireotrofos. Apesar disto, o tratamento crônico com drogas dopaminérgicas em pacientes criticamente enfermos não leva ao hipotireoidismo (69). O efeito inverso é observado com metoclopramida, um antagonista dopaminérgico, que aumenta a secreção de TSH (70).

Interferon e Interleucinas: O uso das citocinas tem sido associado com o desenvolvimento tanto de hipo como de hipertireoidismo (71,72). São drogas utilizadas no tratamento de doenças infecciosas como hepatite e também em neoplasias como melanoma e carcinoma de células renais. A administração aguda de interferon alfa leva a uma diminuição do T_3 e elevação do TSH (73). As doenças tireoideanas induzidas pelas citocinas parecem ser mediadas por mecanismo imunológico. São mais freqüentes nas mulheres, em pacientes com anticorpos antitireoideanos positivos antes do início do tratamento e nos pacientes portadores de hepatite C (71). Durante o tratamento com interferon alfa, os níveis de anticorpos podem apresentar uma elevação enquanto pacientes sem anticorpos podem desenvolvê-los (71,72). Frequentemente a tireotoxicose ocorre como consequência de uma tireoidite destrutiva. Em muitos pacientes, as disfunções tireoideanas melhoram alguns meses após a suspensão da terapêutica com citocinas (73).

DOSAGEM DE IODOTIRONINAS (T_4 E T_3) E FATORES INTERFERENTES NA SUA INTERPRETAÇÃO

A tiroxina (T_4) é o principal hormônio secretado pela glândula tireóide. Por outro lado, cerca de 80% da triiodotironina (T_3) plasmática é sintetizada em sítios extra-tireoideanos através da 5'-monodeiodinação do T_4 nos diversos tecidos (74). Os hormônios tireoidianos circulam na corrente sanguínea quase que totalmente ligados às proteínas plasmáticas, apenas 0,02% do T_4 e 0,2% do T_3 circulam na forma livre. As três proteínas transportadoras de hormônio tireoidiano mais importantes são a globulina ligadora de tiroxina (TBG), a pré-albumina ligadora de tiroxina (transtiretina) e a albumina, que são responsáveis por 75%, 10-15% e 10-15% do transporte de T_4 , respectivamente. O transporte do T_3 é semelhante, apenas com uma proporção menor ligada à transtiretina. Uma pequena fração de T_4 e T_3 circulam ligados às lipoproteínas (75-77).

Até a década de 60 a avaliação da função tireoidiana era feita pelo único teste disponível, utilizando-se a técnica do iodo ligado à proteína (PBI), uma estimativa indireta da concentração sérica de T_4 total (78). Com os avanços tecnológicos houve uma melhora na sensibilidade e especificidade dos métodos de avaliação da função tireoidiana. Para tanto, são utilizados imunoenaios competitivos e, mais recentemente, ensaios imunométricos não competitivos (IMA) (79,80). Do ponto de vista tecnológico, tem sido mais fácil desenvolver métodos para medir a concentração do hormônio tireoidiano total (livre + liga-

do à proteína), onde os hormônios ligados são liberados das proteínas transportadoras por um agente bloqueador ou competidor antes da avaliação. Isto ocorre porque a concentração sérica do hormônio tireoidiano total (T_4T e T_3T) é medida em nanomol, enquanto que a concentração do hormônio livre (T_4 e T_3 livre) é medida em picomol (74).

As concentrações de T_4 e T_3 livres são, pelo menos teoricamente, mais relevantes do que as do hormônio total. Primeiramente, o hormônio livre é o hormônio biologicamente ativo. Além disso, as várias alterações nas proteínas transportadoras (adquiridas ou herdadas) alteram as concentrações séricas do T_4 e do T_3 total, independente do *status* tireoidiano (81).

O TSH e o T_4 livre são utilizados de rotina na avaliação da função tireoidiana. O T_4 livre não é suscetível às alterações nas proteínas transportadoras de hormônio tireoidiano e possui uma variação intraindividual muito pequena, mesmo em estudos de até um ano de duração. Além disso, o TSH apresenta uma relação log-linear com as alterações do T_4 livre e também possui ensaios de alta sensibilidade. Atualmente, os métodos de análise permitem uma utilização conveniente e econômica do TSH e do T_4 livre (82,83). Abordaremos nesta sessão as técnicas disponíveis para avaliação dos hormônios tireoidianos (HT), suas limitações frente às diversas situações e fatores que interferem na sua avaliação.

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE T_3 E T_4 TOTAL

As concentrações séricas de T_3 e T_4 totais são medidas por imunoenaios competitivos (IMAs), que utilizam como sinal iodo radioativo, enzima, fluorescência ou quimioluminescência (84-86). A medida do hormônio total requer a inclusão de um agente inibidor. Estes agentes bloqueiam a ligação do hormônio às proteínas séricas, facilitando a ligação do hormônio ao anticorpo da reação (86-88). O valor de referência para o T_4 total é de 4,5 a 12,6 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (58-160 nmol/L) e para o T_3 total de 80 a 180 ng/dl (1,2-2,7 nmol/L) (89). A variabilidade internétodo para medida de T_3 e T_4 total é bastante grande, cerca de 15 e 25%, respectivamente. Isto se deve à ausência de referência internacional para as preparações de L- T_3 e L- T_4 cristalinas, assim como a diferenças nas matrizes selecionadas para os calibradores e na eficiência dos agentes bloqueadores empregados. O agente bloqueador pode liberar quantidades diferentes de hormônio das proteínas da matriz em relação à TBG da amostra (90,91).

Também é importante ressaltar que todos os métodos para avaliação de HT são comparativos. Os imunoenaios partem do princípio de que a amostra e o

padrão são idênticos em todas as outras características mensuráveis, exceto na concentração do hormônio avaliado. Portanto, os ensaios se tomam inválidos quando agentes interferentes, anticorpos ou outras proteínas que se ligam ao traçador (hormônio marcado) diferem entre amostra e padrão. Se menos traçador está disponível para competição com o anticorpo do ensaio na amostra do que no padrão, os resultados serão inadequadamente altos e vice-versa (92).

A acurácia diagnóstica do HT total seria equivalente à do hormônio livre se todos os pacientes tivessem níveis iguais de proteínas transportadoras e com afinidade semelhante aos HT (93). Concentrações anormais de T_3 e T_4 total causadas por alterações nas proteínas transportadoras são comumente encontradas. Portanto, a medida isolada do hormônio total não é confiável em termos diagnósticos (94,95). O hormônio total deve ser avaliado em conjunto com outros testes, como medida de TBG ou índice de T_4 livre, que vão esclarecer ou corrigir as anormalidades nas proteínas ligadoras (96).

Métodos de avaliação de T_3 e T_4 livre

Os testes disponíveis para medir T_3 e T_4 livre utilizam métodos indiretos, que requerem duas etapas distintas para sua realização, ou métodos diretos com imunoensaios. No método direto absoluto, o hormônio livre é separado daquele ligado à proteína antes de se empregar um imunoensaio sensível. A separação física do hormônio livre pode ser feita por diálise de equilíbrio, ultrafiltração ou filtração com gel. Este método é considerado o padrão ouro para avaliação de hormônio livre, porém é trabalhoso e caro sendo realizado apenas em centros de referência (79,97). O método direto comparativo pode ser feito em uma ou duas etapas, com o anticorpo ou o hormônio marcado. Em geral, são os mais utilizados nos laboratórios clínicos de rotina (96).

O método indireto de índice de hormônio livre requer duas medidas, a do hormônio total e da concentração das proteínas transportadoras. A medida das proteínas pode ser feita com imunoensaio para TBG ou pelo cálculo da taxa de ligação do HT (96). Os métodos indiretos e os diretos comparativos, que são usados de rotina, são dependentes de proteínas ligadoras de HT. Portanto, estes métodos não são totalmente confiáveis quando utilizados em pacientes portadores de doença não tireoidiana, de alterações nas proteínas transportadoras e de anticorpos anti- T_3 e T_4 (97-99).

Os valores de referência para os métodos diretos comparativos de T_4 livre são de 0,7 a 1,8ng/dl (9 a

23pmol/L) e do T_3 livre são de 23 a 50pg/ml (35 a 77pmol/L). No método direto absoluto, empregando diálise de equilíbrio, o limite superior de normalidade do T_4 livre é de 2,5ng/dl (100).

Fatores interferentes na avaliação dos hormônios tireoidianos

Efeitos ambientais, de agentes químicos e drogas na função tireoidiana

O sistema de controle de *feedback*, a auto-regulação da glândula tireóide e a grande capacidade de armazenar hormônio dentro e fora da tireóide servem para manter o mais constante possível o aporte de hormônio aos tecidos periféricos independente de alterações internas e externas. Porém, algumas destas alterações podem influenciar de diversas formas na função tireoidiana e devem ser levadas em consideração na análise dos testes (101). Flutuações sazonais e climáticas não causam alterações significativas na concentração dos HT. Alguns estudos demonstraram aumento de T_3 e T_4 total nos meses mais frios e diminuição no período do verão (101,102). Em altitudes acima de 5.400 metros ocorre elevação de T_3 e T_4 total e T_4 livre com TSH normal (101).

A desnutrição, a inanição e o jejum causam diminuição do T_3 livre e total. Por outro lado, a superalimentação causa aumento dos mesmos (102). Vários estudos demonstraram que os exercícios não causam alteração na função tireoidiana. Portanto, não se constitui em uma variável importante nos testes de T_4 e T_3 (103-105). O stress, seja físico ou emocional, causa aumento da atividade adrenocortical e inibe a produção de T_3 com conseqüente diminuição dos níveis séricos de T_3 livre e total (106). Alterações na absorção, encontradas mais comumente em pacientes submetidos a cirurgia intestinal, devem ser consideradas nos casos em que o TSH permanece elevado e o T_4 e T_3 diminuídos após a terapia de reposição ter sido iniciada (107,108). A má aderência ao tratamento deve ser considerada nos casos de aumento inapropriado de T_4 e TSH, que ocorre quando o paciente hipotireóide usa a medicação apenas nos dias que antecedem o exame (107,109).

Na análise dos testes de função tireoidiana devem ser consideradas as condições de coleta e armazenamento das amostras, assim como o erro humano na realização da coleta, identificação da amostra e na realização dos exames (110,111). A tireoidectomia, radioterapia do pescoço e uso de medicamentos devem também ser considerados na avaliação dos HT (tabela 1).

Tabela 1 - Fatores interferentes na dosagem das iodotironinas e na sua interpretação.

- 1. Agentes que afetam metabolismo extratiroideo do HT***
Inibição conversão de T_4 - T_3 : glicocorticóides, amiodarona, Propranolol, agentes iodados
Aumento do clearance de T_4 - T_3 : Difenilhidantoína, rifampicina, Carbamazepina, fenobarbital
Diminuição absorção de T_4 ingerido: hidróxido de alumínio, Sulfato ferroso, sucralfate, colestiramina
- 2. Agentes que afetam proteínas transportadoras de HT***
Competição na ligação do HT a TBG: salicilatos, furosemide, Heparina sulfoniluréia, Fenilbutazona
Redução daTBG: androgênios, glicocorticóides, ácido nicotínico
Aumento da TBG: estrogênio, heroína, clofibrato, 5-fluoracil
- 3. Agentes que inibem a síntese e secreção do HT***
Inibição da secreção: iodo, lítio
Alteração da síntese hormonal: drogas anti-tiroideanas, Sulfoniluréia, sulfonamidas, Ketoconazol
Bloqueio do transporte de iodo: minerais, lítio, etionamida, Ânions monovalentes
- 4. Agentes que modificam função imunológica**
Terapia com anticorpos monoclonais, Interleucina 1, interferon α e β
- 5. Agentes que modificam ação hormonal**
Amiodarona, fenitolina

*HT = hormônio tireoidiano

Fatores interferentes nos ensaios de T_4 e T_3 total e livre

O teste ideal para medir HT não deveria sofrer interferência de nenhum componente do soro, independente da sua concentração. A maioria das interferências nas medidas de T_4 e T_3 total e livre causam valores inapropriadamente anormais na presença de concentração sérica normal de TSH (112). As interferências nos imunoenaios competitivos e não competitivos (IMAs) podem ser classificadas em: reação cruzada, interações com drogas e presença de anticorpos.

A reação cruzada resulta da inabilidade do anticorpo da reação em discriminar corretamente o hormônio analisado de uma outra molécula semelhante. Os ensaios dos HTs são menos suscetíveis a este tipo de interferência do que os ensaios de TSH. A disponibilidade de anticorpos monoclonais e policlonais purificados e com alta afinidade reduziu a reação cruzada dos testes de T_4 e T_3 para menos de 0,1% considerando todos os precursores iodados e metabólicos da L-tiroxina (113).

A interferência por droga resulta da presença *in vitro* de um agente diagnóstico ou terapêutico no soro da amostra em concentração suficiente para interferir com o teste, como ocorre frequentemente com o furosemide e a heparina (114,115). As três principais classes de anticorpos que causam interferência nos imunoenaios dos HTs são os auto-anticorpos, os anticorpos heterófilos e o fator reumatóide. Os auto-anticorpos incluem os anticorpos anti-tireoglobulina, anti-tireoperoxidase, anti-receptor de TSH e os anticorpos anti- T_4 e T_3 (THAAb) (116,117). Os últimos (THAAb) são os mais raros, porém os únicos que interferem nos testes de função tireoidiana (118). A prevalência dos THAAb na população é de 0 a 1,8% e cerca de 1 a 10% nas doenças autoimunes tireoidianas e não tireoidianas (117,119). A prevalência varia de acordo com o método utilizado e o grupo de pacientes analisados (120,121). Os THAAb se ligam ao T_4 e T_3 marcado e ao T_4 e T_3 da amostra levando a resultados falsamente elevados ou diminuídos de T_4 e T_3 livre e/ou total dependendo do método utilizado (118,122). O tipo de interferência do THAAb não só depende do método utilizado, mas também da sua afinidade pelo HT e concentração na amostra (123-125). No caso de suspeita de interferência com THAAb, deve-se fazer uma avaliação do TSH, dosar HT com um método comparativo e se necessário utilizar uma das técnicas para remover ou identificar o THAAb (precipitação com polietileno-glicol ou radioimunoensaio) (118).

Os anticorpos heterófilos, presentes contra imunoglobulina animal, interferem em ensaios imunométricos promovendo a ligação do anticorpo de captura ao anticorpo de detecção (122). Estes ensaios utilizam anticorpos monoclonais de camundongo, ovelha ou coelho. O anticorpo heterófilo mais conhecido é o anticorpo humano anti-camundongo (HAMA) (122,126,127). Vários estudos demonstraram a presença do HAMA em ensaios de TSH (128,129). Há relato de apenas um caso de interferência nos ensaios de HT livre e total (130). O fator reumatóide se comporta como um HAMA, porém é bem menos freqüente. Nordem e col. descreveram em 5 pacientes a interferência do fator reumatóide no ensaio para T_4 livre (131).

Situações especiais na avaliação de T_4 e T_3 total

Doença não tireoidiana

Quando um paciente portador de doença não tireoidiana (DNT) é submetido aos testes de função tireoidiana, algumas questões devem ser consideradas: a

gravidade da doença, a presença de uma disfunção tireoidiana prévia não diagnosticada ou de uma alteração na tireóide secundária a DNT (132). Os níveis séricos de T₃ total, em geral, estão diminuídos devido à inibição da 5' deiodinação periférica (133). Tanto o T₃ como o T₄ podem estar reduzidos devido a alterações nas proteínas transportadoras (tabela 2) (134). Quando o TSH e o T₄ são avaliados em conjunto, os resultados alterados raramente levam ao diagnóstico de hipo ou hipertireoidismo. A hipotiroxinemia persistente sem a elevação sérica antecipada do TSH é um achado comum que sugere hipotireoidismo central (135,136). Vários medicamentos são utilizados para tratar o paciente gravemente enfermo. Alguns podem alterar a função tireoidiana, como por exemplo os agentes dopaminérgicos, os glicocorticóides e os beta-bloqueadores (tabela 1).

Alterações nas proteínas transportadoras de hormônio tireoidiano

Alterações nas proteínas transportadoras de HT, adquiridas ou herdadas geneticamente, podem cursar com aumento ou diminuição dos seus níveis séricos assim como na afinidade pelo T₃ e/ou T₄. A TBG é a principal proteína transportadora de HT. O aumento de TBG vai ocasionar um aumento do T₃ e do T₄ total com níveis séricos normais de TSH, T₃ e T₄ livres. O aumento da TBG induzido pelo estrogênio, a mais comum das alterações adquiridas, se deve à glicosilação aumentada com retardo do *clearance* da TBG (tabela 1). Este efeito não ocorre com os estrogênios administrados por via transdérmica (137,138). Alterações genéticas da TBG causam aumento ou diminuição de T₃ e T₄ total de forma semelhante. Já as alterações da

albumina apresentam afinidade seletiva por T₃ ou T₄ (tabela 2) (139,140).

Situações especiais na avaliação de T₃ e T₄ livre

Doença não tireoidiana

O paciente com DNT, em geral, está sob efeito de vários medicamentos que podem alterar tanto a função tireoidiana como causar artefatos nos ensaios. A pouca especificidade na avaliação de TSH e T₄ livre é a base para que avaliação da função tireoidiana não seja feita de rotina nestes pacientes (141). Quando necessário deve-se medir TSH com um ensaio sensível (sensibilidade funcional de 0,02mU/L), que vai diferenciar os pacientes hipertireóides com TSH suprimido dos pacientes com TSH reduzido pela DNT (142). As diferenças nas concentrações séricas de T₃ e T₄ livre são método dependentes. Em geral, testes indiretos apresentam valores reduzidos enquanto que os testes diretos apresentam valores normais ou elevados de T₃ e T₄ livre (100,143). O paciente com DNT e hipertireoidismo, em geral, apresenta TSH suprimido e valores normais ou elevados de T₃ e T₄ livre. O paciente eutireóide com DNT apresenta níveis transitariamente reduzidos de TSH e valores normais ou baixos de T₃ e T₄ livre. Diferentemente, o paciente hipotireóide apresenta níveis elevados de TSH e baixos de T₃ e T₄ livre (92).

Heparina

O efeito da heparina em aumentar o T₄ livre é um importante fenômeno *in vitro* (144). Com albumina sérica normal, concentração de ácido graxo não este-

Tabela 2. Resumo das concentrações séricas de T₃ e T₄ total em diversas situações.

T ₃ sérico	T ₄ sérico		
	baixo	normal	alto
baixo	Hipotireoidismo severo Deficiência de TBG DNT severa*	DNT* Medicações Feto Restrição nutricional	Tireotoxicose severa DNT* amiodarona
normal	Deficiência de iodo Tratamento com T ₃ Hipotireoidismo		Tratamento com T ₄ FDH** Tireotoxicose + DNT* Anticorpos anti- T ₄
alto	Deficiência de iodo Tratamento com T ₃ Droga anti-tireoidiana	Toxicose por T ₃ Anticorpos anti- T ₃	Tireotoxicose Ingestão ↑ de T ₄ Excesso de TBG Resistência ao HT

* DNT = Doença não tireoidiana; ** FDH = Hipertiroxinemia disalbuminêmica familiar.

rificado acima de 3nmol/L, a heparina aumenta o deslocamento de T₄ livre da TBG (145,146). Estes níveis de ácido graxo são raros *in vivo*, porém a armazenagem ou a incubação de amostras de pacientes tratados com heparina induz a atividade da lipase lipoprotéica. Esta enzima aumenta a concentração de ácido graxo não esterificado com conseqüente aumento de T₃ e T₄ livre. Este efeito é ampliado com níveis séricos elevados de triglicerídeos e reduzidos de albumina (144,145).

Agentes que competem na ligação com proteínas transportadoras

Vários medicamentos deslocam T₃ e T₄ da TBG. As principais drogas que deslocam T₄ da TBG são os salicilatos, fenclofenaco, fenitoína, carbamazepina e furosemide. Os salicilatos aumentam a fração de T₄ livre em até 100% e a carbamazepina e o furosemide em cerca de 30% (146-148). O potencial inibitório vai depender da concentração da droga, de sua meia-vida, fração livre e da sua afinidade pela TBG (92,146). O deslocamento depende não somente do potencial inibitório mas também da concentração relativa do hormônio livre e do competidor. O T₄ livre será mais subestimado quanto maior for a diluição da amostra nos ensaios (148).

Terapia de reposição com tiroxina

Vários estudos demonstraram que pacientes em tratamento com tiroxina exógena apresentam níveis séricos aumentados de T₄ livre e total em relação aos níveis séricos de TSH e T₃, quando comparados com controles eutireoidianos e sem tratamento (14,149). A ausência de secreção de T₃ pela tireóide pode explicar parcialmente esta diferença (92).

Tireotoxicose e hipotireoidismo

As concentrações de T₃ e T₄ livre não mantêm uma correlação linear com os níveis do hormônio total na tireotoxicose e no hipotireoidismo. Na tireotoxicose severa a concentração de T₄ total pode estar muito elevada, atingindo ou excedendo a capacidade da TBG, que pode já estar diminuída nesta situação. Desta forma, ocorre um aumento desproporcional do T₃ e T₄ livre quando o T₄ total aumenta muito. Efeito inverso ocorre no hipotireoidismo (150,151).

Gravidez

Os achados de hipotireoidismo materno causando efeitos adversos no desenvolvimento psicomotor fetal chamam a atenção sobre a importância de se fazer uma avaliação correta da função tireoidiana na gestação (9). A interpre-

tação do T₄ livre durante a gestação é complicada devido às diferenças metodológicas (152,153). O T₃ e o T₄ livre diminuem no segundo e terceiro trimestre para cerca de 20 a 40% abaixo do valor médio normal (152). Os métodos dependentes de albumina podem fornecer resultados até 50% menores, devido à diminuição da albumina sérica nas gestantes (153). Em contraste, devido ao aumento de TBG durante a gestação, métodos realizados com diluição maior das amostras vão apresentar níveis aumentados de T₄ livre (154).

Testes de função tireoidiana versus achados clínicos

Quando os resultados laboratoriais são discordantes dos achados clínicos, deve-se analisar a possibilidade de doença prévia não diagnosticada, doença subclínica ou alteração no ensaio. As seguintes etapas podem ser esclarecedoras nestas situações:

- Reavaliar o contexto clínico, descartar síndromes de resistência e anormalidades das proteínas transportadoras;
- Medir TSH com método sensível;
- Utilizar um método comparativo para o hormônio tireoidiano alterado;
- Medir T₄ livre utilizando método "padrão ouro" (diálise de equilíbrio);
- Medir T₃ e T₄ total para esclarecer artefatos na medida de T₄ livre;
- Utilizar técnicas para remover ou identificar fatores interferentes.

REFERÊNCIAS

1. Spencer CA, LoPresti JS, Patel A, et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:453.
2. Spencer CA. Proposed NACB laboratory medicine practice guidelines for the diagnosis and monitoring of thyroid disease, in preparation.
3. Chin WW, Carr FE, Burnside J, Darling DS. Thyroid hormone regulation of thyrotropin gene expression. *Recent Prog Horm Res* 1993;48:393.
4. Brabant G, Prank K, Ranft U, et al. Physiologic regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;70:403.
5. Hershman JM, Pekary AE, Berg L, et al. Serum thyrotropin and thyroid hormone levels in elderly and middle-aged euthyroid persons. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:823.
6. Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:553.

7. Spencer CA, LoPresti JS, Nicoloff JT, et al. Multiphasic thyrotropin responses to thyroid hormone administration in man. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:854.
8. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, et al. American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction. **Arch Intern Med** 2000;160:1573.
9. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. **N Engl J Med** 1999;341:549.
10. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE, et al. Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. **J Med Screen** 2000;7:127.
11. Leung AS, Miller LK, Koonings PP, Montoro M, Mestman JH. Perinatal outcomes in hypothyroid pregnancies. **Obstet Gynecol** 1993;81:349.
12. Cooper DS. Subclinical hypothyroidism. **N Engl J Med** 2001;345:260.
13. Ross DS. Serum thyroid-stimulating hormone measurement for assessment of thyroid function and disease. **Endocrinol Metab Clin North Am** 2001;30:245.
14. Fish LH, Schwartz HL, Cavanaugh J, et al. Replacement dose, metabolism, and bioavailability of levothyroxine in the treatment of hypothyroidism: Role of triiodothyronine in the treatment of hypothyroidism, role of triiodothyronine in pituitary feedback in humans. **N Engl J Med** 1987;316:764.
15. Uy HL, Reasner CA, Samuels MH. Pattern of recovery of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis following radioiodine therapy in patients with Grave's disease. **Am J Med** 1995;99:173.
16. Brennan M, Klee GG, Preissner CM, et al. Heterophilic serum antibodies: A cause for falsely elevated serum thyrotropin levels. **Mayo Clin Proc** 1987;62:894.
17. Faglia G, Bitensky L, Pinchera A, et al. Thyrotropin secretion in patients with central hypothyroidism: Evidence for reduced biologic activity of immunoreactive thyrotropin. **J Clin Endocrinol Metab** 1979;48:989.
18. Rose SR, Lustig RH, Pitukcheewanont P, et al. Diagnosis of hidden central hypothyroidism in survivors of childhood cancer. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:4472.
19. Miura Y, Perkel VS, Papenberg KA, et al. Concanavalin-A, lentil, and ricin affinity binding characteristics of human thyrotropin: Differences in sialylation of thyrotropin in sera of euthyroid, primary, and central hypothyroid patients. **J Clin Endocrinol Metab** 1989;69:985.
20. Ross DS, Daniels GH, Gouveia D. The use and limitations of a chemiluminescent TSH assay as a single thyroid function test in an outpatient endocrine clinic. **J Clin Endocrinol Metab** 1990;71:764.
21. Lee HY, Suhl J, Pekary AE, et al. Secretion of thyrotropin with reduced concanavalin-A-binding activity in patients with severe non-thyroidal illness. **J Clin Endocrinol Metab** 1987;65:942.
22. Fliers E, Guldenaar SE, Wiersinga WM, et al. Decreased hypothalamic thyrotropin-releasing hormone gene expression in patients with non-thyroidal illness. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:4032.
23. Hamblin PS, Dyer SA, Mohr VS, et al. Relationship between thyrotropin and thyroxine changes during recovery from severe hypothyroxinemia of critical illness. **J Clin Endocrinol Metab** 1986;62:717.
24. van den Berghe D, de Zegher F, Baxter RC, et al. Neuroendocrinology of prolonged critical illness. Effects of exogenous thyrotropin-releasing hormone and its combination with growth hormone secretagogues. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:309.
25. Wartofsky L, Burman KD, Ringel MD. Trading one "dangerous dogma" for another? Thyroid hormone treatment of the "euthyroid sick syndrome". **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:1759.
26. Spencer C, Eigen A, Shen D, et al. Specificity of sensitive assays of thyrotropin (TSH) used to screen for thyroid disease in hospitalized patients. **Clin Chem** 1987;33:1391.
27. Larsen PR, Atkinson AJ, Wellman HN, Goldsmith RE. The effect of diphenylhydantoin on thyroxine metabolism in man. **J Clin Invest** 1970;49:1266-79.
28. Schwartz HL, Kozyreff V, Surks MI, Oppenheimer JH. Increased deiodination of L-thyroxine and L-triiodothyronine by liver microsomes from rats treated with phenobarbital. **Nature** 1969;221:1262-3.
29. Campbell NR, Hasinoff BB, Stalts H, Rao B, Wong, NC. Ferrous sulfate reduces thyroxine efficacy in patients with hypothyroidism. **Ann Intern Med** 1992;117:1010-3.
30. Liel Y, Sperber AD, Shany S. Nonspecific intestinal adsorption of levothyroxine by aluminum hydroxide. **Am J Med** 1994;97:363-5.
31. Gamstedt A, Jarnerot A, Kagedal B, Soderholm B. Corticosteroids and thyroid function. **Acta Med Scand** 1979;205:379.
32. Re RN, Kourides IA, Ridgway EC, et al. The effect of glucocorticoid administration on human pituitary secretion of thyrotropin and prolactin. **J Clin Endocrinol Metab** 1976;43:338-46.
33. Samuels MH, McDaniel PA. Thyrotrophin levels during hydrocortisone infusions that mimic fasting-induced cortisol elevations: a clinical research study. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:3700-4.
34. Berson SA, Yalow RS. The effect of cortisone on the iodine accumulating functions of the thyroid gland in euthyroid subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 1952;12:407.
35. Topliss DJ, White EL, Stockigt JR. Significance of thyrotropin excess in untreated primary adrenal insufficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 1980;50:52-6.
36. Chopra IJ, Williams DE, Orgiazzi J, Solomon DH. Opposite effects of dexamethasone on serum concentrations of 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T3) and 3,3',5-triiodothyronine (T3). **J Clin Endocrinol Metab** 1975;41:911-20.
37. Burger A, Dinichert D, Nicod P, et al. Effects of amiodarone on serum triiodothyronine, reverse triiodothyronine, thyroxine and thyrotropin. **J Clin Invest** 1976;58:255-9.
38. deJong M, Docter R, Van der Hoek H, et al. Different effects of amiodarone on transport of T4 and T3 into the perfused rat liver. **Am J Physiol** 1994;266:E44.
39. Nademanee K, Piwonka RW, Singh BN, Hershman JM. Amiodarone and thyroid function. **Prog Cardiovascul Dis** 1989;31:427-37.

40. Hudig F, Bakker O, Wiersinga WM. Tri-iodothyronine prevent the amiodarone-induced decrease in the expression of the liver low-density lipoprotein receptor gene. **J Endocrinol** 1997;152:413-21.
41. Martino E, Safran M, Aghini-Lombardi F, et al. Environmental iodine intake and thyroid dysfunction during chronic amiodarone therapy. **Ann Intern Med** 1984; 101:28-34.
42. Bartalena L, Brogioni S, Grasso L, Bogazzi F, Burelli A, Martino E. Treatment of amiodarone-induced thyrotoxicosis, a difficult challenge: results of a prospective study. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:2930-3.
43. Martino E, Safran M, Aghini-Lombardi F, et al. Environmental iodine intake and thyroid dysfunction during chronic amiodarone therapy. **Ann Intern Med** 1984; 101:28-34.
44. Glinoeer D, Fernandez-Deville M, Ermans AM. Use of direct thyroxine-binding globulin measurement in the evaluation of thyroid function. **J Endocrinol Invest** 1978; 1:329-35.
45. Ramey JN, Burrow GN, Polackwich RK, Donabedian RK. The effect of oral contraceptive steroids on the response of thyroid-stimulating hormone to thyrotropin-releasing hormone. **J Clin Endocrinol Metab** 1975;40:712.
46. Lemarchand-Beraud T, Rappoport G, Magrini G, Berthier C, Reymond M. Influences of different physiological conditions on the gonadotropins and thyrotropin responses to LHRH and TRH. **Horm Metab Res** 1974;5 (suppl):170.
47. Moreira RM, Lisboa PC, Curty FH, Pazos-Moura CC. Dose-dependent effects of 17-beta-estril on pituitary thyrotropin content and secretion in vitro. **Braz J Med Biol Res** 1997;30:1129-34.
48. Rutlin E, Haug E, Torjesen PA. Serum thyrotrophin, prolactin and growth hormone, response to TRH during oestrogen treatment. **Acta Endocrinol** 1977;84:23-35.
49. Gross HA, Appleman MD, Nicoloff JT. Effect of biologically active steroids on thyroid function in man. **J Clin Endocrinol Metab** 1971;33:242-8.
50. Groonroos PE, Irljala KM, Selen GP, Forsstrom JJ. Computerized monitoring of potentially interfering medication in thyroid function diagnostics. **Int j Clin Monit Comput** 1997;14:255-9.
51. Larsen PR. Salicylate-induced increases in free triiodothyronine in human serum: Evidence of inhibition of triiodothyronine binding to thyroxine-binding globulin and thyroxine-binding prealbumin. **J Clin Invest** 1972;51:1125-34.
52. Dussault JH, Turcotte R, Guyda H. The effect of acetylsalicylic acid on TSH and PRL secretion after TRH stimulation in the human. **J Clin Endocrinol Metab** 1976;43:232-5.
53. Alexander WD, Johnson KWM. A comparison of the effects of acetylsalicylic acid and DL-triiodothyronine in patients with myxoedema. **Clin Sci** 1956;15:593-600.
54. Hershman JM, Jones CM, Bailey AL. Reciprocal changes in serum thyrotropin and free thyroxine produced by heparin. **J Clin Endocrinol Metab** 1972;34:574.
55. Jaume JC, Mendel CM, Frost PH, Greenspan FS, Loughton CW. Extremely low doses of heparin release lipase activity into the plasmas and can thereby cause artifactual elevations in the serum-free thyroxine concentration as measured by equilibrium dialysis. **Thyroid** 1996;6:79-83.
56. Wu SY, Chopra IJ, Solomon DH, Bennett LR. Changes in circulating iodothyronines in euthyroid and hyperthyroid subjects given Iodate (Oragrafin), an agent for oral cholecystography. **J Clin Endocrinol Metab** 1978; 46: 691-7.
57. Kleinman RE, Vagenakis AG, Braverman LE. The effect of iopanoic acid on the regulation of thyrotropin secretion in euthyroid subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 1980;51:399-403.
58. Brown RS, Cohen JH, Braverman LE. Successful treatment of massive acute thyroid hormone poisoning with iopanoic acid. **J Pediatr** 1998;132:903-5.
59. DeGroot LJ, Rue PA. Roentgenographic contrast agents inhibit triiodothyronine binding to nuclear receptors *in vitro*. **J Clin Endocrinol Metab** 1979;49:538-42.
60. Molholm Hansen J, Skovsted L, Birk Lauridsen U, Kirkegaard C, Stersbaek-Nielsen K. The effect of diphenylhydantoin on thyroid function. **J Clin Endocrinol Metab** 1974;39:785.
61. Surks MI, DeFesi CR. Normal serum free thyroid hormone concentrations in patients treated with phenytoin or carbamazepine, a paradox resolved. **JAMA** 1996;275: 1495-8.
62. Brookstaff RC, Murphy VA, Skare JA, Minnema D, Sangiri U, Parkinson A. Effects of doxylamine succinate on thyroid hormone balance and enzyme induction in mice. **Toxicol Appl Pharmacol** 1996;141:584-94.
63. Rootwelt K, Ganes T, Johannessen SI. Effects of carbamazepine, phenytoin and phenobarbitone on serum levels of thyroid hormones and thyrotropin in humans. **Scan J Clin Lab Invest** 1978;38:731.
64. Wartofsky L, Dimond RC, Noel GL, et al. Failure of propranolol to alter thyroid iodine release, thyroxine turnover, or the TSH and PRL responses to thyrotropin-releasing hormone in patients with thyrotoxicosis. **J Clin Endocrinol Metab** 1975;41:485-90.
65. Reichlin S. Regulation of the hypophysiotropin secretion of the brain. **Arch Intern Med** 1975;135:1350.
66. Morley JE. Neuroendocrine control of thyrotropin secretion. **Endocr Rev** 1981;2:396-436.
67. Kaptein EM, Spencer CA, Kamiel MB, et al. Prolonged dopamine administration and thyroid hormone economy in normal and critically ill subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 1980;51:387.
68. Miyai K, Onishi T, Hosokawa M, et al. Inhibition of thyrotropin and prolactin secretions in primary hypothyroidism by 2-Br-a-ergocryptine. **J Clin Endocrinol Metab** 1974;39:391-4.
69. Spaulding SW, Burrow GN, Donabedian RK, Van Woert M. L-dopa suppression of thyrotropin releasing hormone response in man. **J Clin Endocrinol Metab** 1977;35:182.
70. Samuels MH, Kramer P. Effects of metoclopramide on fasting-induced TSH suppression. **Thyroid** 1996;6:85-9.
71. Fernandez-Soto L, Gonzalez A, Escobar-Jimenez F, Vazquez R, Ocete E, Olea N, et al. Increased risk of autoimmune thyroid disease in hepatitis C vs. hepatitis B

- before, during and after discontinuing interferon therapy. **Arch Intern Med** 1998;158:1445-8.
72. Amenomori M, Mori T, Fukuda Y, Sugawa H, Nishida N, Furukawa M, et al. Incidence and characteristics of thyroid dysfunction following interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. **Intern Med** 1998;37:246-52.
73. Koh LK, Greenspan FS, Yeo PP. Interferon-alpha induced thyroid dysfunction: three clinical presentations and a review of the literature. **Thyroid** 1997;7:891-6.
74. Braverman LE, UR eds. 2000. **The Thyroid**. A Fundamental and Clinical Text. 9th ed., JB Lippincott Co., New York, 2000.
75. Bevenga S, Cahnmann HJ, Robbins J. Characterization of thyroid hormone binding to apolipoprotein-E: Localization of the binding site in the exon 3-coded domain. **Endocrinology** 1993;133:1300.
76. Refetoff S. Inherited thyroxine-binding globulin (TBG) abnormalities in man. **Endocrine Reviews** 1989;10:275-93.
77. Refetoff S, Murata Y, Mori Y, Janssen O, Takeda K, Hayashi Y. Thyroxine-binding globulin: organization of the gene and variants. **Hormone Research** 1996;45:128-38.
78. Benotti J, Benotti N. Protein-bound iodine, total iodine and butanol extractable iodine by partial automation. **Clin Chem** 1963;9:408.
79. Ekins RP. Ligand assays: from electrophoresis to miniaturized microarrays. **Clin Chem** 1998;44:2015-30.
80. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. **Clin Chem** 1996;42(1):141-5.
81. Stockigt JR. Genetic defects in thyroid hormone synthesis: Transport protein variants. In DeGroot LJ, Jameson L (eds.): **Endocrinology**, ed 5. Philadelphia, WB Saunders, in press.
82. Becker DV, et al. Optimal use of blood tests for assessment of thyroid function. **JAMA** 1993;269:2736.
83. Helfand M, Schmittner J. Screening for thyroid dysfunction: which test is best? **JAMA** 1993;270:2297.
84. Chopra I. A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. **J Clin Endocrinol Metab** 1972;34:938-43.
85. Symons RG. Evaluation of a fluorescence polarization immunoassay of thyroxine and thyroxine-uptake. **Clin Chem** 1985;31:1342-8.
86. Demers LM. Thyroid function testing and automation. **J Clin Ligand Assay** 1999;22:38-41.
87. Hufner M, Hesch RD. A comparison of different compounds for TBG-blocking used in radioimmunoassay for triiodothyronine. **Clin Chim Acta** 1973;44:101-7.
88. Matsuda M, Sakata S, Komaki T, Nakamura S, Kojima N, Takuno H, et al. Effect of 8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid (ANS) on the interaction between thyroid hormone and anti-thyroid hormone antibodies. **Clin Chim Acta** 1989;185:139-46.
89. Klee GG. Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. **Clin Chem** 1996;42:155-9.
90. Zuchelli GC, Pilo A, Chiesa MR, Piro MA. Progress report on a national quality-control survey of triiodothyronine and thyroxin assay. **Clin Chem** 1984;30:395-8.
91. Witherspoon LR, El Shami AS, Shuler SE, Neely H, Sonnemaker R, Gilbert SS, et al. Chemically blocked analog assays for free thyronines. 1. The effect of chemical blockers on T4 analog and T4 binding by albumin and by Thyroxin Binding Globulin. **Clin Chem** 1988;34:9-16.
92. Stockigt JR. Free thyroid hormone measurement: A critical Appraisal. **Endocrinol Metab Clin North Am** 2001;30:265-89.
93. Nelson JC, Wilcox RB. Analytical performance of free and total thyroxine assays. **Clin Chem** 1996;42:146-54.
94. De Nayer P, Malvaux P, Beckers C. Familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia (FDH): inadequacy of the "analog" methods for assaying free T4 levels. **Eur J Nucl Med** 1984;10:284-5.
95. John R, Henley R, Shankland D. Concentrations of free Thyroxin and free Triiodothyronine in serum of patients with Thyroxin- and Triiodothyronine-binding autoantibodies. **Clin Chem** 1990;36:470-3.
96. Hay ID, Bayer MF, Kaplan MM, et al. American Thyroid Association assessment of current free thyroid hormone and thyrotropin measurements and guidelines for future clinical assays. **Clin Chem** 1991;35:317-20.
97. Ekins R. The science of free hormone measurement. **Proc UK NEQUAS Meeting** 1998;3:35-59.
98. Wang R, Nelson JC, Weiss RM, Wilcox RB. Accuracy of free thyroxine measurements across natural ranges of thyroxine binding to serum proteins. **Thyroid** 2000; 10:31-9.
99. Chopra IJ, Van Herle AJ, Chua Teco GN, Nguyen AH. Serum free thyroxine in thyroidal and non-thyroidal illnesses: a comparison of measurements made by radioimmunoassay, equilibrium dialysis and free thyroxine index. **J Clin Endocrinol Metab** 1980;51:135-43.
100. Chopra IJ. Simultaneous measurement of free thyroxine and free 3,5,3'-triiodothyronine in undiluted serum by direct equilibrium dialysis/radioimmunoassay: evidence that free triiodothyronine and free thyroxine are normal in many patients with low triiodothyronine syndrome. **Thyroid** 1998;8:249-57.
101. Surks MI, Beckwith HJ, Chidsey CA. Changes in plasma thyroxine concentration and metabolism, catecholamine excretion, and basal oxygen consumption in man during acute exposure to high altitude. **J Clin Endocrinol Metab** 1967;27:789.
102. Jahreis G, Kauf E, Fröhnert G, Schmidt HE. Influence of intensive exercise on insulin-like growth factor I, thyroid and steroid hormones in females gymnasts. **Growth Regul** 1991;1:95-9.
103. Loucks AB, Callister R. Induction and prevention of low-T3 syndrome in exercising women. **Am J Physiol** 1993;264:924-30.
104. Poehlman ET, McAuliffe TL, Van Houten DR, Danforth E. Influence of age and endurance training on metabolic rate and hormones in healthy men. **Am J Physiol** 1990;259:E66-72.
105. Alen M, Pakarinen A, Häkkinen K. Effects of prolonged training on serum thyrotropin and thyroid hormones in elite strength athletes. **J Sports Sci** 1993;11:493-7.

106. Keffer JH. Preanalytical considerations in testing thyroid function. **Clin Chem** 1996;42:125-34.
107. Toft AD. Thyroxine therapy. **N Engl J Med** 1994; 331:174-80.
108. Stone E, Leiter LA, Lambert JR, Silverberg JDH, Burrow GN. L-thyroxine absorption in patients with short bowel. **J Clin Endocrinol Metab** 1984;59:139-41.
109. Watts NB. Use of a sensitive thyrotropin assay for monitoring treatment with levothyroxine. **Arch Intern Med** 1989;149:309-12.
110. Williams JS, Jackson TM. Functional sensitivity of thyrotropin assays. **Clin Chem** 1995;41:474-6.
111. Finn AF, Velestein PN, Burke MD. Alteration of physician orders by non-physicians. **JAMA** 1988;259:2549-52.
112. Kricka LJ. Interferences in Immunoassay - still a threat. **Clin Chem** 2000;46:1037-8.
113. McBride JH, Rodgerson Do, Allin RE. Choriogonadotrophin interference in a sensitive assay for thyrotropin. **Clin Chem** 1987;33:1303-4.
114. Kailajarvi M, Takala T, Gronroos P, et al. Reminders of drug effects on laboratory test results. **Clin Chem** 2000;46:1395-400.
115. Stockigt JR, Lim CF, Barlow JW. High concentrations of furosemide inhibit plasma binding of thyroxine. **J Clin Endocrinol Metab** 1984;59:62.
116. Dayan CM, Gilbert GH. Chronic autoimmune thyroiditis. **N Engl J Med** 1996;335:99-107.
117. Sakata S, Matsuda M, Ogawa T, et al. Prevalence of thyroid hormone autoantibodies in healthy subjects. **Clin Endocrinol** 1994;41:365-70.
118. Després N, Grant AM. Antibody interference in thyroid assays: a potential for clinical misinformation. **Clin Chem** 1998;44:440-54.
119. Vyas SK, Wilkin TJ. Thyroid hormone autoantibodies and their implications for free thyroid hormone measurement. **J Endocrinol Invest** 1994;17:15-21.
120. Sakata S, Nakamura S, Miura K. Autoantibodies against thyroid hormones or iodothyronine. **Ann Intern Med** 1985;103:579-89.
121. Wang PW, Huang MJ, Liu RT, Chen CD. Triiodothyronine autoantibodies in Graves' disease: their changes after antithyroid therapy and relationship with the thyroglobulin antibodies. **Acta Endocrinol** 1990;122:22-8.
122. Kohse KP, Wisser H. Antibodies as a source of analytical errors. **J Clin Chem Clin Biochem** 1990;28:881-92.
123. Nelson JC, Wilcox RB. Analytical performance of free and total thyroxine assays. **Clin Chem** 1996;42:146-54.
124. Sapin R, Schlienger JL, Gasser F, Chambron J. Anti-triiodothyronine auto-antibody interference in recent free thyroid hormone assays. **Clin Biochem** 1996;29:89-92.
125. Lai LC, Day JA, Clark F, Peaston RT. Spuriously high free thyroxine with the Amerlite MAB FT4 assay. **J Clin Pathol** 1994;47:181-2.
126. Levinson SS. Antibody multispecificity in immunoassay interference. **Clin Biochem** 1992;25:77-87.
127. Boscato LM, Stuart MC. Incidence and specificity of interference in two-site immunoassays. **Clin Chem** 1986;32:1491-5.
128. Lauberg P. Persistent problems with the specificity of immunometric TSH assays. **Thyroid** 1993;3:279-83.
129. Zweig MH, Csako G, Spero M. Escape from blockade of interfering heterophile antibodies in a two-site immunoradiometric assay for thyrotropin. **Clin Chem** 1988;34:2589-91.
130. Fiad TM, Duffy J, McKenna TJ. Multiple spuriously abnormal thyroid function indices due to heterophilic antibodies. **Clin Endocrinol** 1994;41:391-5.
131. Norden AGW, Jackson RA, Norden LE, et al. Misleading results from immunoassays of serum free thyroxine in the presence of rheumatoid factor. **Clin Chem** 1997;43:957-62.
132. DeGroot LG. Dangerous dogmas in medicine: the non-thyroidal illness syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:151-64.
133. Piketty ML, D'Herbomez M, Le Guillouic D, et al. Clinical comparison of three labeled-antibody immunoassays of free triiodothyronine. **Clin Chem** 1996;42:933-41.
134. Wartofsky L. The low T3 or "sick euthyroid syndrome": update 1994. **Endocrinol Rev** 1994;3:248.
135. Rothwell PM, Udawadia ZF, Lawler PG. Thyrotropin concentration predicts outcome in critical illness. **Anaesthesia** 1993;48:373-6.
136. Sapin R, Schlienger J-L, Gasser F, et al. Intermethod discordant free thyroxine measurements in bone marrow-transplanted patients. **Clin Chem** 2000;46:418-22.
137. Ain KB, Mori Y, Refetoff S. Reduced clearance rate of thyroxine-binding globulin (TBG) with increased sialylation: A mechanism for estrogen-induced elevation of serum TBG concentration. **J Clin Endocrinol Metab** 1987;65:689.
138. Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold KA, et al. Biologic effects of transdermal estradiol. **N Engl J Med** 1986;314:1615.
139. Carvalho GA, Weiss RE, Refetoff S. Complete thyroxine-binding globulin (TBG) deficiency produced by a mutation in acceptor splice site causing frameshift and early termination of translation (TBG-Kankakee). **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3604-8.
140. Petersen CE, Scottolini AG, Cody LR, et al. A point mutation in the human serum albumin gene results in familial dysalbuminaemic hyperthyroxinemia. **J Med Genet** 1994;31:355.
141. Stockigt JR. Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness. **Clin Chem** 1996; 42:188-92.
142. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyn M, et al. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays for thyrotropin (TSH): impact on reliability of measurement of subnormal concentration. **Clin Chem** 1995;41:367-74.
143. Nelson JC, Weiss RM. The effects of serum dilution on free thyroxine concentration in the low T4 syndrome of nonthyroidal illness. **J Clin Endocrinol Metab** 1985; 61:239-46.
144. Mendel CM, Frost PH, Kunitake ST, Cavalieri RR. Mechanism of the heparin-induced increase in the concentration of free thyroxine in plasma. **J Clin Endocrinol Metab** 1987;65:1259-64.

145. Ekins RP. Measurement of free hormones in blood. **Endocr Rev** 1990;9:5-46.
146. Lim C-F, Bai Y, Topliss DJ, et al. Drug and fatty acid effects on serum thyroid hormone binding. **J Clin Endocrinol Metab** 1988;67:682.
147. Munro SL, Lim C-F, Hall JG, et al. Drug competition for thyroxine binding to transthyretin (prealbumin): Comparison with effects on thyroxine-binding globulin. **J Clin Endocrinol Metab** 1989;68:1141.
148. Hawkins RC. Furosemide interference in newer free thyroxine assays. **Clin Chem** 1998;44:2550.
149. Pearce CJ, Himsworth RL. Total and free thyroid hormone concentrations in patients receiving maintenance replacement treatment with thyroxine. **Br Med J** 1984;288:693.
150. Inada M, Sterling K. Thyroxine transport in thyrotoxicoses and hypothyroidism. **J Clin Invest** 1967;46:1442.
151. Nauman JA, Nauman A, Werner SC. Total and free triiodothyronine in human serum. **J Clin Invest** 1967;46:1346.
152. Gilnoer D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. **Endocr Rev** 1997;18:404-33.
153. Roti E, Gardini E, Minelli R, et al. Thyroid function evaluation by different commercially available free thyroid hormone measurement kits in term pregnant women and their newborns. **J Endocrinol Invest** 1991;14:1-9.
154. Osathanondh R, Tulshinsky D, Chopra IJ. Total and free thyroxine and triiodothyronine in normal and complicated pregnancy. **J Clin Endocrinol Metab** 1976; 42:98-104.

Endereço para correspondência:

Hans Graf
Serviço de Endocrinologia e Metabologia
Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (SEMPR)
Rua Padre Camargo 262
80.060-240 Curitiba, PR
Fax: (41) 264-8721
e.mail: hansgraf@bsi.com.br