



FUNÇÃO TIREOIDIANA PRINCIPAIS TESTES LABORATORIAIS E APLICAÇÕES DIAGNÓSTICAS

**Prof. Homero Jackson de Jesus Lopes
Assessor Técnico-Científico da Gold Analisa Diagnóstica Ltda
Belo Horizonte – MG
Ano 2002**

ÍNDICE

	Página
Introdução	2
Glândula Tireóide	2
Hormônios Tireoidianos	3
Tabela-1:Hormônios da Tireóide	3
Tabela 2:Correlação entre T ₃ e T ₄	3
Metabolismo e Fisiologia dos Hormônios Tireoidianos	4
Biossíntese de T ₃ e T ₄	4-5
Fig.1:Representação Esquemática da Síntese de T ₃ e T ₄	5
Controle da Secreção de T ₃ e T ₄	5-6
Fig.2:Representação Esquemática do Controle da Secreção de T ₃ e T ₄	6
Substâncias ou Drogas que podem afetar a Síntese e a Liberação de T ₃ e T ₄	7
Drogas que influenciam a Função Tireoidiana	7
Transporte dos Hormônios Tireoidianos	8
Catabolismo dos Hormônios Tireoidianos	8
Tabela 3:Condições Associadas com Alterações da TBG	8
Ação Fisiológica dos Hormônios Tireoidianos	9
Tabela 4:Efeitos da Deficiência (Hipotireoidismo) e do Excesso (Hipertireoidismo) de T ₃ e T ₄ no Organismo	9
Doenças da Tireóide: Tireotoxicose – Hipertireoidismo – Hipotireoidismo - Eutireoidismo	10-14
Esquema proposto para o Diagnóstico do Hipertireoidismo	15
Esquema proposto para o Diagnóstico do Hipotireoidismo	16
Diagnóstico Laboratorial das Doenças Tireoidianas	17
Principais Testes de Avaliação da Função Tireoidiana:	
1- Dosagem do Hormônio Estimulante da Tireóide (TSH)	18-19
2- Dosagem da Tiroxina (T ₄)	20-21
3- Dosagem da Triiodotironina (T ₃)	22
4- Determinação dos Hormônios Tireoidianos Livres (T ₃ e T ₄ Livres)	23-24
5- Dosagem da Tireoglobulina (Tg)	24
6- Pesquisa de Anticorpos Antitireoidianos (Anti-Tg e Anti-TPO)	25
7- Outros Testes de Aplicação na Avaliação da Função Tireoidiana:	25
Dosagem da TBG / Dosagem do T ₃ Reverso /Teste de Estímulo com TRH /	
Pesquisa de Anticorpos Anti-Receptor de TSH (TRAB) / Dosagem da Calcitonina	
Imunoensaios:	
1-Competitivos Heterogêneos e Homogêneos	26
2-Imunoensaios Isotópicos Heterogêneos (RIA)	26
3-Imunoensaios Não Isotópicos Heterogêneos (EIA, FIA, ELISA)	27
4-Imunoensaios Não Isotópicos Homogêneos (EMIT, FPIA)	27
5-Ensaios Imunométricos (IRMA, IEMA)	28
Bibliografia	29

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a contribuição do laboratório clínico para o diagnóstico e acompanhamento das doenças tireoidianas tem sofrido modificações extremamente significativas e importantes. É indiscutível que as metodologias empregadas no laboratório vêm passando por um acentuado desenvolvimento tecnológico, especificamente nas dosagens do TSH e dos hormônios livres (T_3 e T_4), que juntamente com as determinações da tireoglobulina (Tg) e dos anticorpos tireoidianos têm contribuído significativamente para se obter uma maior especificidade diagnóstica.

Com a edição desse manual, a Assessoria Técnico-Científica da Análise Diagnóstica pretende disponibilizar para os profissionais das análises clínicas uma literatura sintética, didática e atualizada sobre a função tireoidiana, que contemple os seguintes aspectos do tema:

- Fisiologia da glândula e metabolismo dos hormônios tireoidianos
- Aspectos diversos do hiper e hipotireoidismo
- Principais testes laboratoriais empregados na avaliação da função tireoidiana.

GLÂNDULA TIREÓIDE

A tireóide é constituída de dois lobos situados na região inferior do pescoço, um de cada lado da traquéia, ligados por uma camada fina de tecido denominada de ístimo, que lhe confere o formato de uma borboleta.

A glândula de um adulto normal tem um peso aproximado de 10 a 20 g e é bastante irrigada, recebendo um fluxo sanguíneo de cerca de 5 mL de sangue/g de tecido/minuto.

Em determinadas situações e, particularmente, quando o restante da glândula está aumentada, pode ocorrer a formação de um terceiro lobo, denominado lobo piramidal, que se prolonga acima do ístimo, lateralmente à traquéia.

Cada lobo da tireóide mede aproximadamente 2 a 2,5 cm de espessura e de largura no seu diâmetro maior, por 2,5 a 4 cm de comprimento. O ístimo mede cerca de 2 cm de largura e de altura, por 0,5 cm de espessura. O lobo direito é normalmente maior e mais vascularizado do que o esquerdo e, por isso mesmo, torna-se ainda maior nos processos associados a um aumento difuso da glândula.

Os lobos são constituídos de estruturas esféricas denominadas de folículos, que são células epiteliais arranjadas sobre uma membrana de base, circundando um material amorfo denominado de colóide. *O folículo é a unidade funcional da tireóide.*

O colóide é composto principalmente de tireoglobulina (Tg) e de pequenas quantidades de tireoalbumina.

A tireoglobulina é uma glicoproteína iodada de alto peso molecular que funciona como suporte para a produção dos hormônios tireoidianos. A tireoglobulina (Tg) constitui-se, portanto, numa forma de armazenamento de T_3 , de T_4 e de seus precursores moniodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT).

A tireóide contém ainda outro tipo de células, conhecidas como células C ou parafoliculares, que são responsáveis pela produção da calcitonina, um hormônio importante na homeostase do cálcio.

Na vida fetal, inicialmente, o organismo é dependente dos hormônios tireoidianos da mãe.

A partir da 11^a semana, a tireóide fetal começa a captar o iodeto e, já no meio da gestação (18-20 semanas), passa a secretar seus próprios hormônios T_3 e T_4 . No nascimento, há um acentuado aumento nos valores do TSH, um aumento no T_4 e no T_3 , cujos níveis decaem gradualmente para a faixa de normalidade durante o primeiro mês de vida.

HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

A função principal da tireóide é secretar uma quantidade suficiente de T_3 e T_4 , hormônios que promovem o crescimento e o desenvolvimento normal das pessoas e que regulam uma variedade de funções homeostáticas, como a produção de energia e calor.

A secreção tireoidiana compreende os seguintes compostos:

- T_4 , Tiroxina ou 3,5,3',5'-L-tetraiodotironina
- T_3 , Triiodotironina ou 3,5,3'-L-triiodotironina
- pequenas quantidades de T_3 Reverso (rT_3) ou 3,3',5'-L-triiodotironina, um hormônio biologicamente inativo.
- quantidades diminutas de MIT (monoiiodotirosina) e DIT (diiodotirosina), que são precursores de T_3 e T_4 .
- calcitonina, um hormônio polipeptídico de ação no metabolismo do cálcio.

O T_3 e o T_4 são os hormônios biologicamente ativos presentes no sangue, com o T_3 apresentando uma potência biológica muito maior do que o T_4 . Considerando que cerca de 30% da produção diária de T_4 é convertida em T_3 nas células dos tecidos periféricos, há quem considere o T_4 sem atividade biológica, atuando como um prohormônio de T_3 .

A tireóide é a única fonte de T_4 , enquanto que 20% do T_3 é proveniente da tireóide e 80% origina-se da desiodação do T_4 nos tecidos, principalmente no fígado. Além de originar o T_3 ativo, o T_4 pode também dar origem a uma forma de T_3 inativo, chamado de T_3 Reverso (rT_3), quando a sua desiodação ocorre no anel interno da tirosina.

Tabela 1- HORMÔNIOS DA TIREÓIDE

HORMÔNIO	TIPO	TECIDO ALVO	AÇÃO PRINCIPAL
Tiroxina - T_4 Triiodotironina - T_3	Iodo derivados da tirosina	Todos os tecidos	Aumento da velocidade metabólica
Calcitonina - Ct	Polipeptídeo	Osteoclastos	Inibição da reabsorção óssea do cálcio

Tabela 2- CORRELAÇÃO ENTRE T_3 e T_4

	T_3 (Triiodotironina)	T_4 (Tiroxina)
Concentração sérica total	50 - 210 ng/dL	4,5 - 13,0 μ g/dL
Concentração sérica livre	T_3 livre = 0,4 - 1,3 ng/dL	T_4 livre = 0,7 - 2,2 ng/dL
% ligado à proteína	99,5 - 99,8%	99,95 - 99,97%
% livre	0,2 - 0,5%	0,03 - 0,05%
Meia vida	1,5 - 3,0 dias	7 - 9 dias
Produção diária	30 μ g/dia	80 μ g/dia
Transporte	TBG ~ 100% TBPA (muito pouco)	TBG ~ 75% TBPA ~ 15% ALBUMINA ~ 10%
Ligação ao receptor celular	O T_3 tem uma afinidade pelos receptores celulares de 10 a 20 vezes maior do que o T_4	
Potência biológica	O T_3 tem potência biológica 3 a 4 vezes superior à do T_4	
Ligação com TBG	O T_4 tem uma afinidade por TBG de 10 a 15 vezes maior do que o T_3	

METABOLISMO E FISIOLOGIA DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

A ingestão diária de iodo, proveniente dos alimentos e da água, sofre uma variação muito grande nas diversas partes do universo, oscilando de níveis extremamente baixos (20 µg/dia) até valores muito altos (600 µg/dia).

Considera-se como ideal para o homem uma ingestão de 150 a 300 µg/dia. Valores muito baixos podem ocasionar o bócio endêmico. Em muitos países é comum a adição de iodo ao sal de cozinha para se evitar o aparecimento do bócio na população.

O iodo ingerido é transformado em iodeto (I⁻) no trato gastrointestinal e sob essa forma é absorvido dentro de 30 minutos. As perdas do iodo juntamente com as fezes é muito pequena.

No sangue, a maior parte do iodeto é eliminado por via renal e a outra parte é captada pela tireóide para produzir T₃ e T₄, havendo eliminação de pequenas quantidades através do ar expirado e da pele.

BIOSSÍNTESE DE T₃ E T₄

1. Captação do iodeto do sangue para dentro da glândula

A tireóide capta e concentra o iodeto dentro da glândula através de um mecanismo de bombeamento próprio, dependente de energia e ativado pelo hormônio estimulante da tireóide (TSH). Esse mecanismo consegue manter uma relação de iodeto glandular por iodeto plasmático nos valores de 40 a 50 por 1.

A captação do iodeto é acentuadamente estimulada pelo TSH e pelo estimulador do receptor de TSH (TSH-R Ab stim) encontrado na doença de Graves.

Iodo da dieta → Iodeto da circulação sangüínea → Iodeto do folículo tireoideano

2. Síntese da tireoglobulina

A tireoglobulina (Tg) é uma glicoproteína de alto peso molecular, produzida pelo folículo tireoideano sob o estímulo do TSH, contendo em sua estrutura cerca de 140 resíduos de tirosina.

A sua produção encontra-se diminuída na hipofisectomia e na terapia com T₃.

3. Oxidação do iodeto e formação de MIT e DIT

O iodeto dentro da tireóide é rapidamente oxidado através de peroxidases para iodo elementar que posteriormente, passa por um processo de organificação envolvendo a iodação dos resíduos de tirosina existentes na molécula da tireoglobulina (Tg).

A organificação do iodeto compreende portanto, a sua oxidação para iodo elementar e conseqüente incorporação às tirosinas da tireoglobulina (Tg).

Além do iodeto do sangue bombeado para dentro da tireóide, há também o iodeto gerado dentro da própria tireóide por desiodação das iodotirosinas (MIT e DIT) liberadas durante a proteólise da tireoglobulina.

As peroxidases tireoideanas ativam tanto a oxidação do iodeto quanto à sua incorporação aos resíduos de tirosinas da tireoglobulina. O intermediário da iodação das tirosinas pode ser um íon I⁺, um hipiodato ou um radical livre de iodo. Esta fase da biossíntese é também ativada pelo TSH.

2 I⁻ → I₂ → I⁺ (iodo ativo formado por heterólise que será incorporado às tirosinas)

O iodo, na sua forma ativa, promoverá um ataque nucleofílico às hidroxilas das tirosinas formando MIT (monoiodotirosina) e DIT (diiodotirosina)

I⁺ (iodo ativo) + HO-Tirosina-Tg → MIT + DIT

4. Acoplamento de MIT com DIT e de DIT com DIT para formar T₃ e T₄

Dentro da estrutura da tireoglobulina duas moléculas de DIT podem se acoplar para formar o T₄ e, do acoplamento de DIT com MIT resulta o T₃. Essas reações são também catalisadas pelas peroxidases tireodianas.

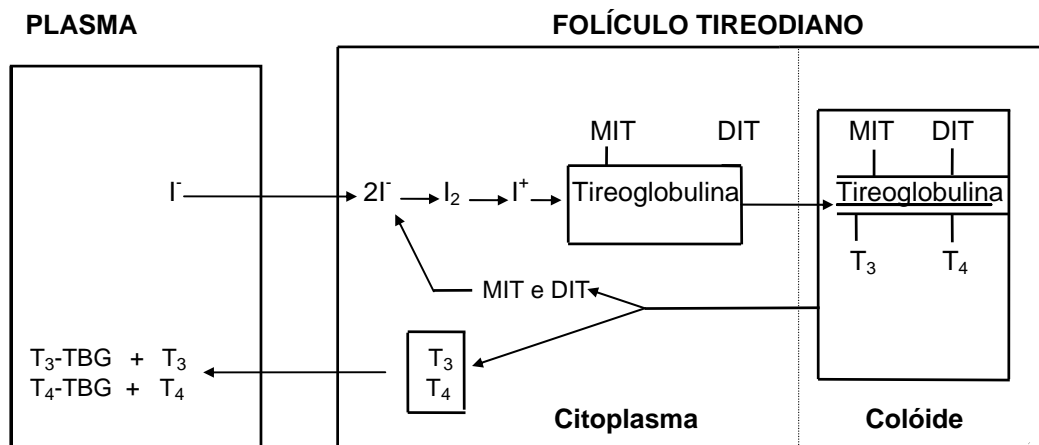


5. Proteólise da tireoglobulina e liberação de T₃ e T₄

Quando há uma demanda metabólica, os hormônios T₃ e T₄ produzidos pelos folículos tireoidianos e armazenados no coloide, são transportados novamente para o citoplasma folicular ainda ligados à tireoglobulina, onde por ação de enzimas proteolíticos lisossomais são liberados para a corrente sangüínea.

A ação do TSH na secreção dos hormônios tireoidianos processa-se através da ativação da adenilciclase na formação do AMP cíclico (AMPc). Juntamente com os hormônios T₃ e T₄, as moléculas de MIT e DIT são também liberadas no citoplasma folicular, sendo deiodinadas por ação de dehalogenases microssômicas. O iodeto liberado é reutilizado pela glândula para a síntese dos seus hormônios. Uma pequena quantidade de tireoglobulina não hidrolisada é também liberada para o sangue.

Figura 1- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE T₃ e T₄



CONTROLE DA SECREÇÃO DE T₃ e T₄

A biossíntese e a liberação de T₃ e T₄ são controladas por mecanismos reguladores tipo *feedback negativo* ou *retroalimentação* que mantêm constante a síntese, o estoque e os níveis dos hormônios no sangue.

O controle da secreção dos hormônios tireoidianos envolve as seguintes etapas:

1- Quando há uma diminuição dos níveis de T₃ e T₄ na circulação sangüínea, os estímulos vagais a nível do hipotálamo causam a liberação do TRH (hormônio liberador de tireotrofina).

O TRH é um tripeptídeo piroglutamil-histidil-prolinamida.

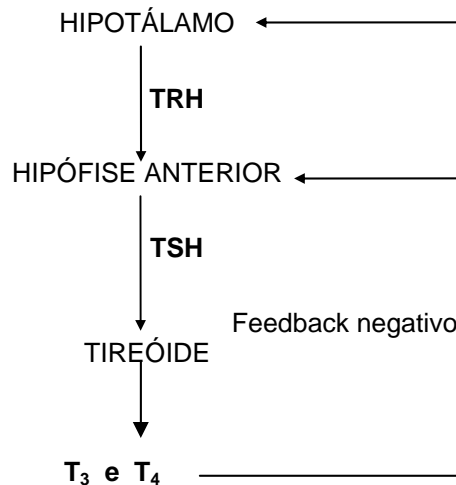
2- O TRH liberado pelo hipotálamo estimula a hipófise na liberação do TSH (hormônio estimulante da tireóide ou tireotrofina).

O TSH é uma glicoproteína de peso molecular 26.000, composto de 2 cadeias polipeptídicas α e β .

A cadeia α do TSH é semelhante às do FSH, LH e HCG, já a cadeia β é específica de cada um desses hormônios.

- 3- O TSH liberado pela hipófise através de ação do TRH hipotalâmico, se liga a um receptor na membrana da célula tireoidiana ativando a adenilciclase e, conseqüentemente, quase todas as etapas da biossíntese de T_3 e T_4 serão ativadas. O TSH é portanto, o principal regulador da função tireoidiana. As principais ações do TSH na tireóide são:
- aumentar o tamanho e o número de células foliculares.
 - ativar a “bomba de iodeto”, isto é, a captação do iodeto para dentro da glândula.
 - ativar a síntese da tireoglobulina (Tg) pelos folículos.
 - estimular a ação das peroxidases tireoidianas nas etapas de oxidação e acoplamento.
 - regular a velocidade de proteólise enzimática da tireoglobulina para a liberação de T_3 e T_4 para a corrente sangüínea.
- 4- Os hormônios tireoidianos produzidos caem na corrente circulatória e, por mecanismo de *feedback negativo*, inibem a ação do TSH na hipófise. Acredita-se também que possa haver uma inibição a nível do TRH hipotalâmico. Há portanto, um equilíbrio entre os níveis de T_3 e T_4 e do TSH e TRH, de tal modo que o aumento ou diminuição na secreção de um deles pode ativar ou inibir a secreção dos outros.
- 5- A secreção dos hormônios tireoidianos pode também ser estimulada ou bloqueada por ação dos autoanticorpos de receptores do TSH.

FIGURA 2 - CONTROLE DA SECREÇÃO DE T_3 e T_4



SUBSTÂNCIAS OU DROGAS QUE PODEM AFETAR A SÍNTESE E LIBERAÇÃO DE T₃ e T₄

- O iodo em altas doses pode saturar a captação do iodeto, bloquear a iodação das tirosinas e a liberação dos hormônios pela tireóide.
- O carbonato de lítio, fenilbutazona e sulfoniluréias também inibem a síntese e a liberação de T₃ e T₄.
- O perclorato (ClO₄⁻), o tiocianato (SCN⁻), nitratos (NO₃⁻), tecnétatos (TcO₄⁻) inibem competitivamente a captação do iodeto pela glândula.
- O propiltiouracil (PTU), metimazol (tapazol), e tiouréias são potentes inibidores das peroxidase tireodianas, impedindo portanto a oxidação do iodeto e o acoplamento das tirosinas. O propiltiouracil inibe também a conversão de T₄ para T₃.
- A dopamina, L-dopa e o excesso de glicocorticoides podem suprimir a secreção do TSH pela adenohipófise.
- O propranolol, o excesso de glicocorticoides, amiodarona (atlansil), ácido iopanoico (telepaque), ácido ipodípico (oragrafin) inibem a conversão de T₄ para T₃
- Salicilatos, furosemida, fenitoína e fenclofenaco diminuem a ligação dos hormônios tireoidianos com a TBG.

DROGAS QUE INFLUENCIAM A FUNÇÃO TIREOIDIANA

DROGAS QUE DIMINUEM A SECREÇÃO DO TSH

Dopamina, Glicocorticóides

DROGAS QUE ALTERAM A SECREÇÃO DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

1-DIMINUINDO

Lítio, Iodeto, Amiodarona, Aminoglutetimida

2-AUMENTANDO

Iodeto, Amiodarona

DROGAS QUE DIMINUEM A ABSORÇÃO INTESTINAL DO T₄

Colestiramina, Colestipol, Hidróxido de Alumínio, Sulfato Ferroso

DROGAS QUE ALTERAM O TRANSPORTE DO T₃ E T₄ NO SORO

1-AUMENTANDO A CONCENTRAÇÃO DA TBG

Estrógenos, Heroína, Metadona, Tamoxifen, Fluouracil

2-DIMINUINDO A CONCENTRAÇÃO DA TBG

Andrógenos, Esteróides anabólicos, Glicocorticóides, Ácido nicotínico

3-DESLOCANDO T₃ E T₄ DOS SÍTIOS DE LIGAÇÃO COM AS PROTEÍNAS

Furosemida, Salicilatos, Fenclofanac,

DROGAS QUE ALTERAM O METABOLISMO DE T₃ E T₄

1-AUMENTANDO O METABOLISMO HEPÁTICO

Fenobarbital, Fenitoína, Carbamazepina, Rifampina

2-DIMINUINDO A ATIVIDADE DA T₄ 5'-DEIODINASE

Propiltiouracil, Amiodarone, Glicocorticóides, antagonistas beta-adrenérgicos,

TRANSPORTE DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

Na circulação sangüínea, os hormônios tireoidianos encontram-se sob duas formas: livres e ligados a proteínas transportadoras. As proteínas transportadoras de T_3 e T_4 se ligam aos hormônios de maneira reversível e são as seguintes: TBG (globulina ligadora de tiroxina); TBPA (pré-albumina ligadora de tiroxina) ou transtiretina, e albumina. A TBG é uma glicoproteína de peso molecular 55.000 sintetizada no fígado, sendo responsável pelo transporte de cerca de 100% do T_3 e 75% do T_4 séricos. A afinidade da TBG por T_4 é maior do que por T_3 (10 a 15 vezes). A taxa de T_4 ligado às proteínas é da ordem de 99,97%, enquanto que a de T_3 é de 99,7%. Assim, apenas uma pequena taxa desses hormônios, 0,03% de T_4 e 0,3% de T_3 encontra-se na forma livre (biologicamente ativa) na corrente sangüínea. É a concentração da forma livre dos hormônios que determina o estado tireoidiano da pessoa, independente da concentração sérica total, uma vez que é essa a forma de hormônio que é mantida constante pelo sistema feedback de regulação de suas secreções pela tireóide.

As proteínas transportadoras agem como um sistema tampão, regulando e mantendo normal a concentração dos hormônios livres e também, restringindo as perdas por excreção renal ou por catabolismo hepático.

Uma variedade de situações fisiológicas ou patológicas que podem alterar os níveis plasmáticos das proteínas transportadoras de T_3 e T_4 (TBG principalmente), influenciam diretamente as concentrações plasmáticas de T_3 e T_4 . Deste modo, havendo um aumento nas taxas de TBG, conseqüentemente, ocorrerá um aumento nas concentrações de T_3 e T_4 total. Por outro lado, quando há uma diminuição nos níveis da TBG haverá também uma diminuição nas concentrações plasmáticas de T_3 e T_4 total. Em ambas as situações, as concentrações de T_3 e T_4 livre permanecem inalteradas, desde que não haja uma disfunção da tireóide. Por conseguinte, na interpretação dos resultados dos testes da função tireoidiana é muito importante considerar as possíveis alterações da TBG.

Há também algumas drogas como a fenitoína, salicilatos, fenilbutazona, diazepam que afetam a ligação dos hormônios tireoidianos com as proteínas transportadoras.

CATABOLISMO DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

Os hormônios tireoidianos são inativados através de mecanismos diversos e em locais variados. A principal via de catabolismo do T_4 é através da deiodinação para formar T_3 e T_3 Reverso (rT_3), que também sofrerão os mesmos processos de deiodinação para formar as diiodotirosinas e moniodotirosinas para serem eliminados. A deiodinação do anel externo do T_4 resulta no T_3 e quando ela se processa no anel interno origina o T_3 Reverso (rT_3).

Outra via catabólica é a deaminação oxidativa da cadeia lateral da alanina com formação de produtos tireoacéticos, análogos ao ácido pirúvico que são convertidos em tireoacetatos (Tetrac) por decarboxilação para posterior eliminação na urina.

Uma terceira via metabólica ocorre no fígado, com a inativação dos hormônios através da conjugação para formar compostos sulfatos e glicuronídeos que pelas vias biliares chegam ao intestino para serem eliminados junto com as fezes.

Tabela 3 - CONDIÇÕES ASSOCIADAS COM ALTERAÇÕES DA TBG

Aumento da TBG $\Rightarrow T_4 \uparrow / T_4$ Livre N	Diminuição da TBG $\Rightarrow T_4 \downarrow / T_4$ Livre N
1- Gravidez	1- Desnutrição protéica
2- Uso de estrógenos em altas doses, incluindo anticoncepcionais orais	2- Uso de andrógenos, esteróides anabólicos, glicocorticóides
3- Causas genéticas de elevação da TBG	3- Síndrome nefrótica
4- Hepatite aguda	4- Cirrose hepática
5- Mieloma múltiplo	5- Doença familiar com TBG baixa
6- Hipotireodismo	6- Enteropatia perdedora de proteínas
7- Porfiria intermitente aguda	7- Hipertireoidismo
8- Uso de clofibrato	

\uparrow = alto \downarrow = baixo N = normal

AÇÃO FISIOLÓGICA DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

Os hormônios tireoidianos circulam no sangue unidos às proteínas carregadoras, mas em equilíbrio com a fração livre. O hormônio livre, através de difusão passiva ou após ligar-se a um receptor específico na membrana celular, atinge o citoplasma e se liga a seu receptor específico no núcleo. No interior das células, o T₄ sofre a ação das deiodinases, convertendo-se em T₃, a forma ativa do hormônio tireoidiano.

Muito embora, ainda não se tenha uma certeza absoluta a respeito do mecanismo de ação dos hormônios tireoidianos a nível molecular, acredita-se que eles agem primariamente sobre a síntese protéica e a partir desta, desencadeiam-se todas as ações e efeitos já comprovados.

Outras ações dos hormônios tireoidianos ocorrem a nível das mitocôndrias, regulando a calorigênese e a temperatura corporal.

Em síntese, as ações dos hormônios tireoidianos sempre devem ser analisadas em duas situações, isto é, quando se encontram em doses fisiológicas ou em excesso.

1- Em doses fisiológicas ativam a biossíntese das proteínas através da ligação a receptores nucleares específicos. Regulam a calorigênese e a temperatura corporal, promovem o crescimento, a diferenciação e a maturação dos tecidos. São muito importantes para o crescimento e maturação do sistema nervoso central, particularmente na vida intra-uterina.

Atuam também como reguladores do metabolismo dos carboidratos e gorduras. Em relação aos carboidratos, agem diminuindo a ação da insulina e acelerando a sua degradação. No metabolismo dos lípides promovem a degradação do colesterol em ácidos biliares.

2- Quando em excesso, os hormônios tireoidianos são hiperglicemiantes; aumentam o catabolismo das proteínas e das gorduras; aumentam o consumo de oxigênio e a calorigênese, diminuindo o rendimento energético; produzem também uma desmineralização óssea.

Tabela 4- EFEITOS DA DEFICIÊNCIA (HIPOTIREOIDISMO) E DO EXCESSO (HIPERTIREOIDISMO) DE T₃ E T₄ NO ORGANISMO

NÍVEL DE ORGANIZAÇÃO	HIPOTIREOIDISMO	HIPERTIREOIDISMO
COMPORTAMENTO	1-Lentidão mental 2-Quietude 3-Sonolência 4-Sensibilidade ao frio	1-Rapidez mental 2-Inquietação 3-Excitabilidade 4-Sensibilidade ao calor
ORGANISMO	1-Crescimento deficiente ou Balanço nitrogenado positivo 2-Metabolismo basal baixo 3-Hipercolesterolemia 4-Mixedema	1-Crescimento excessivo ou Balanço nitrogenado negativo 2-Metabolismo basal alto 3-Hipocolesterolemia 4-Exolftalmia
SISTEMA CARDIOVASCULAR	1-Bradycardia 2-Diminuição da velocidade circulatória 3-Pulso lento	1-Taquicardia, palpitações 2-Aumento da velocidade circulatória 3-Pulso rápido
SISTEMA GASTRO-INTESTINAL	1-Hipofagia 2-Constipação 3-Diminuição da absorção de glicose	1-Hiperfagia 2-Diarréia 3-Aumento da absorção da glicose
MÚSCULOS	1-Hipotonia 2-Fraqueza muscular	1-Fibrilação, tremores 2-Fraqueza muscular
IMUNO-MECANISMO	1-Suscetibilidade à infecções	1-Suscetibilidade à infecções
TECIDOS	1-Baixo consumo de O ₂ (Oxidação tissular ↓)	1-Alto consumo de O ₂ (Oxidação ↑)
ENZIMAS	1-Diminuição das enzimas oxidativas	1-Aumento das enzimas oxidativas

DOENÇAS DA TIREÓIDE

As doenças da tireóide são desordens endócrinas muito comuns. Milhões de dólares são gastos para diagnosticar e monitorar os seus tratamentos, sendo que os exames laboratoriais contribuem com um peso considerável nesses custos.

Por isso, os testes laboratoriais devem ser analisados considerando:

- 1- Sua importância clínica.
- 2- Uma análise criteriosa para identificar qual ou quais testes são mais eficientes para o diagnóstico e o monitoramento terapêutico.

As doenças tireoidianas mais comuns que necessitam de testes laboratoriais para se fazer o diagnóstico e monitoramento terapêutico são:

- 1- Hipotireoidismo
- 2- Hipertireoidismo
- 3- Nódulos tireoidianos
- 4- Bócio
- 5- Câncer
- 6- Tireoidite
- 7- Doença hipofisária causando secreção anormal de TSH
- 8- Ainda há certas situações especiais em indivíduos normais, sem doença tireoidiana, em que surgem anormalidades na função tireoidiana, tais como na gravidez, pós-parto e recém-natos.

Os fatores demográficos que podem influenciar no aparecimento de doenças tireoidianas são:

- 1- Sexo
- 2- Idade
- 3- Excesso ou deficiência de iodo
- 4- Exposição a raios X ou a radiações
- 5- Doença factícia
- 6- História familiar

Desordens autoimunes da tireóide como Doença de Graves ou Tireoidite de Hashimoto são de 5 a 8 vezes mais comuns nas mulheres do que nos homens.

A Doença de Graves aparece mais após os 30 a 50 anos de vida.

A Tireoidite de Hashimoto acomete mais as mulheres jovens (puberdade).

A Doença de Plummer atinge mais as pessoas de mais idade.

TIREOTOXICOSE

Síndrome clínica de hipermetabolismo associado a níveis altos de T_3 e T_4 na circulação, independente da origem do excesso dos hormônios.

A concentração sérica de TSH é baixa em todas as causas de tireotoxicose, exceto nos tumores hipofisários secretores de TSH e na resistência hipofisária seletiva aos hormônios tireoidianos.

Os anticorpos Anti-Tg e Anti-TPO estão presentes em pacientes com doença autoimune da tireóide, e a Tg sérica está aumentada em todos os pacientes com tireotoxicose, exceto naqueles com tireotoxicose factícia.

Valores de TSH sérico diminuídos associados com concentrações normais de T_3L e T_4L definem um quadro de síndrome de tireotoxicose sub-clínica.

As principais causas de tireotoxicose são:

1. Hipertireoidismo
2. Outra importante causa de tireotoxicose é a liberação aumentada de hormônio tireoidiano da glândula (não associado com aumento na síntese) provocado por processos inflamatórios destrutivos da tireóide. Geralmente, esse processo está associado com baixo valor de RAIU.
3. Uma causa muito comum de tireotoxicose é a ingestão consciente ou involuntária de quantidades excessivas hormônios tireoidianos (Tireotoxicose factícia).

1-HIPERTIREOIDISMO

O hipertireoidismo constitui-se na principal causa de tireotoxicose provocada pelo aumento na síntese e na secreção dos hormônios tireoidianos pela tireóide. Esses aumentos de T_3 e T_4 são provocados por estimuladores tireoidianos no sangue ou por nódulos tireoidianos funcionantes autônomos. Geralmente, o hipertireoidismo está associado com um aumento na prova de captação de iodo radioativo (RAIU).

O hipertireoidismo (tireotoxicose) resulta da exposição dos tecidos a uma quantidade excessiva e constante dos hormônios tireoidianos devido a uma hiperatividade da glândula. Os principais sinais e sintomas clínicos da doença são: perda de peso com grande apetite, intolerância ao calor (pele quente, sudorese), taquicardia, nervosismo, palpitações, tremores, hiperdefecação, aumento da tireóide (bócio), fraqueza muscular, labilidade emocional e exoftalmia.

De acordo com a Associação Americana de Tireóide (ATA), o diagnóstico laboratorial da maioria dos pacientes com hipertireoidismo pode ser feito através das dosagens T_4 Livre e do TSH ultrasensível. A combinação de um resultado de T_4 Livre alto com um valor de TSH indetectável confirma o diagnóstico de hipertireoidismo. Quando se emprega a dosagem do T_4 total em substituição à do T_4 Livre, deve-se usar o Índice de Tiroxina Livre (ITL), considerando as variações que o hormônio sofre em função da TBG.

Geralmente, o hipertireoidismo ocorre nas seguintes doenças:

1a. Doença de Basedow-Graves (Bócio Difuso Tóxico): é a causa mais comum, correspondendo a cerca de 75% dos casos de hipertireoidismo, e ocorre com maior frequência em pacientes mais jovens (30 a 40 anos). Há uma hiperplasia de toda a glândula que passa a secretar uma quantidade excessiva de hormônios, com conseqüente aparecimento dos sinais e sintomas clínicos do bócio difuso tóxico, tireotoxicose e exoftalmia.

A doença é de origem auto-imune, provocada pelo aparecimento de anticorpos circulantes contra os sítios receptores normais de TSH. Anteriormente, esses anticorpos foram denominados de LATS (Estimulador Tireoidiano de Longa Ação), posteriormente receberam a denominação de TSI (Imunoglobulinas Tireoestimulantes) e atualmente, a denominação mais aceita é a de TRAb (Anticorpos anti-receptores de TSH). Baseado em sua ação fisiológica, os anticorpos anti-receptores de TSH (TRAb) podem ser classificados como estimuladores ou bloqueadores. No hipertireoidismo da doença de Basedow-Graves eles agem estimulando a síntese do AMP cíclico e por conseguinte, aumentando a secreção de T_3 e T_4 pela tireóide.

1b. Adenoma tóxico ou doença de Plummer: compreende cerca de 15% dos casos de hipertireoidismo, provocada por uma hiperplasia de determinada região da tireóide com aumento na secreção dos seus hormônios. A doença é caracterizada pela presença de um ou mais nódulos hiperfuncionantes e é mais freqüente nos pacientes mais velhos. Clinicamente, os sinais e sintomas do hipertireoidismo na doença de Plummer são mais discretos do que os da doença de Graves.

1c. Hipertireoidismo iatrogênico ou tireotoxicose factícia: é uma causa rara de hipertireoidismo, podendo ser provocado pela ingestão de quantidades excessivas de T_3 e de T_4 .

1d. Outras causas bem raras de hipertireoidismo são: carcinoma metastático funcionante da tireóide, tumores hipofisários secretantes de TSH, tireoidite sub-aguda, tumores trofoblásticos.

SUMÁRIO

1-Hipertireoidismo: tireotoxicose devido a síntese e secreção aumentada de T_3 e T_4 pela tireóide, provocado por estimuladores tireoidianos do sangue ou por nódulos tireoidianos funcionantes autônomos (T_3 e T_4 altos com RAIU alta).

2-Tireoidite: tireotoxicose devido a liberação excessiva de T_3 e T_4 da tireóide provocado por processos inflamatórios destrutivos.

3-Tireotoxicose factícia: tireotoxicose devido à ingestão consciente ou acidental de quantidades excessivas de T_3 e T_4 .

Tabela 1. Sinais e sintomas e causas específicas de tireotoxicose

Sinais e sintomas	Etiologia
1-Bócio uni ou multinodular	Bócio nodular tóxico
2-Dor e sensibilidade na tireóide	Tireoidite sub-aguda
3-Ofthalmopatia	Doença de Graves
4-Dermopatia localizada	Doença de Graves
5-Bócio difuso pós-parto não sensível	Tireoidite linfocítica silente

Tabela 2. Tireotoxicose associada com aumento da RAIU (Hipertireoidismo)

Tipo	Etiologia
1-Estimuladores tireodianos circulantes	
1a. Doença de Graves	Anticorpo anti-receptor de TSH
1b. Hipersecreção imprópria de TSH	Tumor hipofisário secretor (aumento na sub-unidade α) Resistência hipofisária aos h. tireodianos
2-Tumor trofoblástico	HCG
3-Coriocarcinoma	HCG
4-Função tireoidiana autônoma	
4a. Adenoma solitário hiperfuncionante	Função autônoma
4b. Bócio multinodular	Função autônoma
4c. Hipertireoidismo autossômico dominante não autoimune	Ativação constitutiva de receptor de TSH

HIPOTIREOIDISMO

Ao contrário do hipertireoidismo, o hipotireoidismo resulta da falta ou de uma ação diminuída dos hormônios tireodianos sobre os tecidos. Desse modo, o hipotireoidismo ocorre quando a quantidade de hormônio tireoideano nos tecidos periféricos é insuficiente para as necessidades metabólicas normais.

A insuficiência primária da tireóide (hipotireoidismo) é uma desordem comum que acomete, em formas brandas ou graves, cerca de 10 a 15% da população mundial.

O hipotireoidismo é mais comum nas mulheres que nos homens, e a incidência aumenta com o avanço da idade.

Os sintomas podem ser clássicos e fáceis de reconhecer ou muito sutis, que podem escapar ao diagnóstico clínico.

A terapia empregada para o tratamento do hipotireoidismo é fácil, barata e precisa, envolvendo a administração de L-tiroxina pura com o monitoramento e eficácia da terapêutica feito através de dosagens de TSH e T_4 Livre.

Os principais sinais e sintomas clínicos da doença são: fraqueza muscular, intolerância ao frio, pele seca, fria e grossa, rouquidão, cabelos delgados e ásperos, fato que caracteriza a insuficiência tireoideana do recém-nascido, com a criança apresentando retardo mental e motor.

O hipotireoidismo é mais comumente causado por doença na glândula tireóide (Hipotireoidismo Primário) e muito menos por doenças da hipófise ou do hipotálamo (Hipotireoidismo Secundário).

O hipotireoidismo pode ser devido a um defeito na biossíntese dos hormônios, resultando no aumento da tireóide (bócio), ou destruição da glândula (sem bócio). Finalmente, o hipotireoidismo pode ocorrer raramente quando os tecidos periféricos são resistentes aos hormônios tireodianos por causa de defeitos mutacionais nos seus receptores.

Portanto, a causa mais comum do hipotireoidismo é uma doença da própria glândula tireóide (Hipotireoidismo Primário).

Através do mecanismo de *feedback negativo* entre os hormônios tireoidianos e a secreção hipofisária do TSH, há um aumento significativo na concentração sanguínea do TSH. Com base em estudos da Associação Americana de Tireóide (ATA), o diagnóstico laboratorial da maioria dos pacientes com hipotireoidismo pode ser feito através das dosagens T₄ Livre e do TSH ultrasensível. Valores de TSHs altos com T₄ Livre (FT₄ ou T₄L) ou Índice de T₄ Livre (FT₄I ou ITL) baixos indicam hipotireoidismo primário.

No hipotireoidismo secundário, os valores de TSHs são baixos juntamente com os de T₄ Livre.

A dosagem do T₃ praticamente não tem aplicação para o diagnóstico do hipotireoidismo.

Hipotireoidismo primário

É a forma mais comum de insuficiência tireoidiana, com uma incidência populacional de 2 a 3%, cujos sinais e sintomas clínicos variam desde um hipotireoidismo leve até os estados mais graves de mixedema ou cretinismo.

As principais causas do hipotireoidismo primário são:

- 1- **Congênitas:** defeito enzimático na biossíntese de T₃ e T₄ ou agenesia ou disgenesia da tireóide. A sua ocorrência é da ordem de 1 para 4000 nascimentos e o diagnóstico precoce é extremamente importante para se evitar o cretinismo. Muitos países e/ou estados têm estabelecido programas oficiais de triagem para esse tipo de hipotireoidismo.
- 2- **Auto-ímmunes:** são responsáveis pela maioria dos casos de hipotireoidismo, originados de doenças auto-ímmunes adquiridas, tais como tireoidite de Hashimoto e mixedema idiopático.
- 3- **Iatrogênicas:** respondem por uma quantidade razoável de casos de hipotireoidismo e geralmente ocorrem nos casos de tireoidectomia e na terapia com I¹³¹ para hipertireoidismo.
- 4- **Induzidas por drogas:** o uso de drogas antitireoidianas, de lítio, amiodarona, e a deficiência ou excesso de iodeto têm cada vez mais se constituído em causas de hipotireoidismo.

Hipotireoidismo secundário

É a forma muito rara de insuficiência tireoidiana, ocorrendo em doenças da hipófise ou do hipotálamo, em que a secreção do TSH, do TRH ou de ambos encontra-se diminuída.

As principais causas do hipotireoidismo secundário são:

- 1- **Disfunção hipofisária:** hipopituitarismo idiopático, neoplasias, cirurgia da hipófise, irradiação terapêutica.
- 2- **Disfunção hipotalâmica:** neoplasias, irradiação terapêutica.

Tabela 1. Etiologia do Hipotireoidismo

Hipotireoidismo com bócio

- Tireoidite linfocítica crônica (Hashimoto)
- Tireoidite pós-parto
- Tireoidite sub-aguda
- Inibição farmacológica da função tireoidiana
 - Drogas anti-tireoidianas (propiltiouracil, metimazol, perclorato)
 - Deficiência de iodeto (bócio endêmico)
 - Excesso de iodeto (inibe a liberação do h. tireoidiano e/ou a síntese na tireoidite de Hashimoto, ou em certas situações tal como na Doença de Graves previamente tratada)
 - Lítio (inibe a liberação)
- Hipotireoidismo (ablativo) sem bócio
 - Terapia do hipertireoidismo com iodo radioativo ou câncer da tireóide
 - Hipotireoidismo cirúrgico
 - Irradiação externa
 - Estágio final da Doença de Graves ou da Tireoidite de Hashimoto
 - Deficiência de TSH (panhipopituitarismo ou deficiência hipotalâmica de TRH)
- Resistência periférica aos hormônios tireoidianos (autossômica dominante)

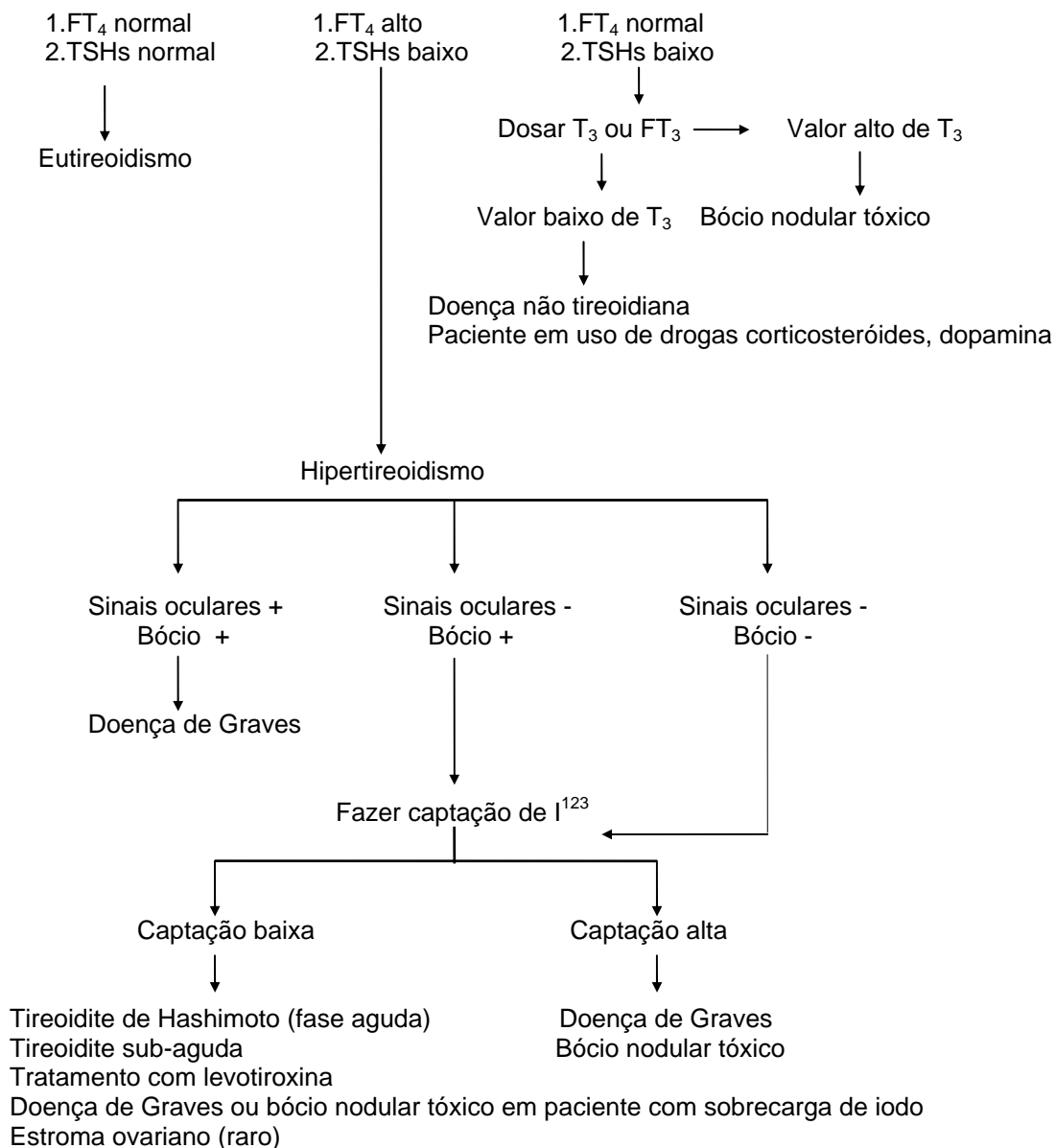
EUTIREOIDISMO

O eutireoidismo inclui aquelas doenças tireoidianas que se manifestam sem alteração nos testes da função tireoidiana, isto é, os valores de T_3 e T_4 são normais. Dentre elas temos: bócio (alguns tipos), tumores benignos da tireóide (adenomas foliculares), e também alguns tumores malignos.

ESQUEMA PROPOSTO PARA O DIAGNÓSTICO DO HIPERTIREOIDISMO

1. Dosar o T₄ Livre (FT₄) ou determinar o Índice de Tiroxina Livre (ITL) juntamente com a dosagem do TSH Sensível, TSH Ultrassensível, TSH de 2^a, de 3^a ou de 4^a geração.
2. Com os resultados obtidos, seguir o esquema abaixo.

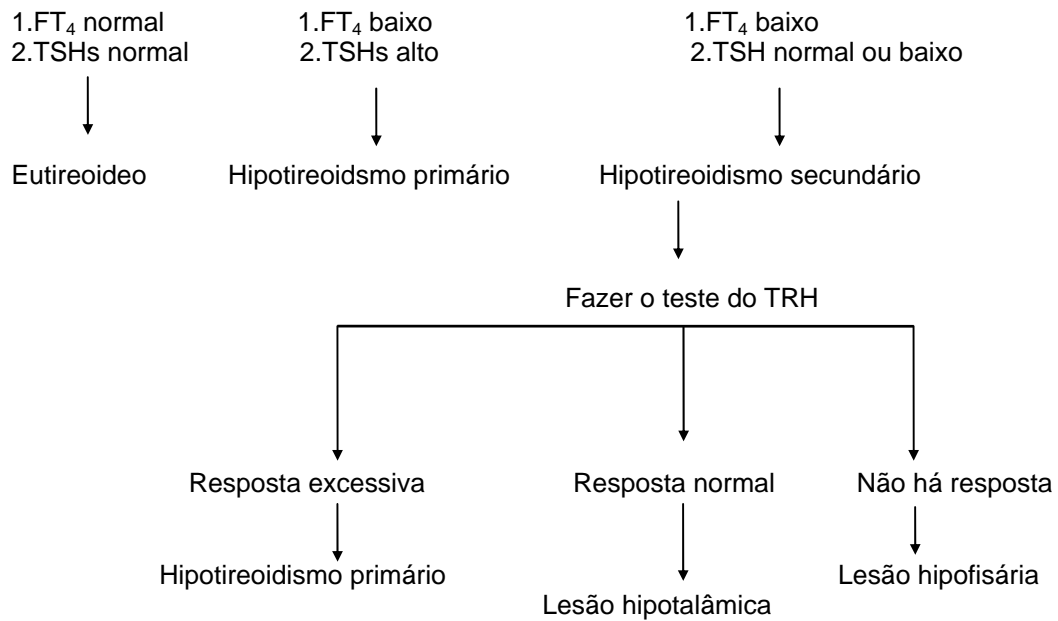
ESQUEMA



ESQUEMA PROPOSTO PARA O DIAGNÓSTICO DO HIPOTIREOIDISMO

3. Dosar o T₄ Livre (FT₄) ou determinar o Índice de Tiroxina Livre (ITL) juntamente com a dosagem do TSH Sensível, TSH Ultrasensível, TSH de 2^a, 3^a ou 4^a geração.
4. Com os resultados obtidos, seguir o esquema abaixo.

ESQUEMA



DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS DOENÇAS TIREOIDIANAS

Nos últimos anos, a American Thyroid Association (ATA) tem publicado diversos artigos^{21,22} científicos que têm contribuído significativamente para clarear, dirimir dúvidas e simplificar o diagnóstico das doenças tireoidianas através dos testes de laboratório.

Não resta dúvida de que o desenvolvimento tecnológico tem introduzido nesse campo técnicas de imunoensaio com grande sensibilidade e especificidade impressionantes. A diversidade de técnicas é tão grande que os laboratoristas, antes da implantação de uma determinada metodologia, deverão proceder a uma avaliação bastante criteriosa levando em consideração a relação custo/benefício.

Atualmente, com o aperfeiçoamento das metodologias de ensaio disponibilizando ensaios de TSH com sensibilidade suficiente para distinguirem níveis baixos dos normais, a abordagem tradicional dos testes da função tireoidiana sofreram alterações significativas. Em lugar de se iniciar o estudo com um teste de T₄ Livre ou T₄ total, emprega-se um ensaio sensível do TSH como teste inicial da avaliação da função tireoidiana. Os níveis de TSH são altos no hipotireoidismo e baixos no hipertireoidismo. O teste do T₄ Livre pode ser empregado quando o valor do TSH for anormalmente alto ou baixo.

A maioria dos testes laboratoriais da função tireoidiana encontra-se comercialmente disponível na forma de kits.

A função tireoidiana pode ser avaliada por uma grande variedade de testes:

1- Testes que determinam a concentração dos hormônios no sangue:

Dosagem do T₄ e T₃

Dosagem do T₄ e T₃ Livres ou determinação do Índice de Tiroxina Livre (ITL)

Dosagem da Tireoglobulina

Dosagem do T₃ Reverso

2- Testes que avaliam o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide:

Dosagem do TSH

Teste do Estímulo do TRH (Dosagem do TSH antes e após TRH)

3- Testes que determinam os autoanticorpos tireoidianos:

Anticorpo Anti-Tireoglobulina (Anti-Tg)

Anticorpo Anti-Tireoperoxidase (Anti-TPO)

Anticorpo Anti-Receptor de TSH (TRAB)

4- Testes que avaliam o metabolismo do iodo:

Teste de Captação do Iodo Radioativo

5- Testes que avaliam o tamanho e morfologia da glândula:

Imagem da Tireóide por meio de I¹²³ (Iodo 123) ou Tc^{99m} (Tecnécio 99 metastático)

Visualização da imagem da tireóide por meio de substância fluorescente Am²⁴¹ (Amerício-241)

Ultrassonografia da Tireóide

Imagem por Ressonância Magnética (MRI)

6- Biópsia da tireóide:

Biópsia da tireóide por aspiração com agulha fina

7- Observação dos efeitos dos hormônios tireoidianos sobre os tecidos periféricos:

Velocidade do Metabolismo Basal (BMR)

Determinação do tempo de contração e relaxamento do tendão de Aquiles

Contratibilidade do músculo cardíaco

Apesar da existência de uma variedade muito grande de testes para avaliar a função tireoidiana, com a melhoria da sensibilidade nas metodologias da dosagem do TSH e a possibilidade de se dosar os hormônios livres, muitos deles já não estão sendo usados.

Por essa razão, neste manual estaremos fazendo considerações apenas sobre os testes laboratoriais de maior aplicabilidade diagnóstica.

PRINCIPAIS TESTES LABORATORIAIS NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDIANA

1- DOSAGEM DO TSH

Sinônimos

Hormônio Estimulante da Tireóide, Tireotrofina, TSH Sensível (TSHs), TSH Ultrasensível, TSH de 2ª geração, TSH de 3ª geração ou de 4ª geração.

Sumário

O hormônio estimulante da tireóide, tireotrofina ou TSH é produzido pela adenohipófise ou hipófise anterior por estímulo do TRH, sendo que a sua secreção é controlada pelos níveis sanguíneos de T₃ e T₄.

O TSH é secretado de uma maneira circadiana, sendo que os valores mais altos ocorrem entre as 2 e as 4 horas da manhã e os valores mais baixos ocorrem entre as 5 e as 6 horas da tarde. Variações de menor amplitude ocorrem durante todo o dia.

A dosagem do TSH (TSH sensível, TSH ultrasensível ou TSH de 2ª, de 3ª ou de 4ª geração) é considerada como o melhor teste para a avaliação da função tireoidiana. Os ensaios sensíveis do TSH são muito bons para confirmar um hipotireoidismo primário e também para o diagnóstico do hipertireoidismo. Assim é que a ATA recomenda que toda avaliação da função tireoidiana no laboratório deve iniciar-se com a dosagem do TSHs.

Fatores Interferentes

- Drogas que podem causar um aumento transitório nos valores de TSH: lítio, metimazol, propiltiouracil, e em alguns pacientes, iodo, amiodarone, e meios de contraste radiológicos.
- Drogas que podem causar uma diminuição nos valores de TSH incluem: glicocorticóides, levodopa, dopamina.
- Os valores de TSH podem estar também aumentados no stress e nas doenças não tireoidianas graves.
- Durante a gravidez os valores de TSH podem apresentar-se diminuídos.

Amostra Biológica

- Usar preferencialmente o soro.
- Evitar trabalhar com amostras hemolisadas ou lipêmicas.
- O plasma colhido em EDTA ou heparina também pode ser usado. Entretanto, como o plasma tende a formar coágulos após refrigeração e congelamento/descongelamento, tais coágulos podem interferir mecanicamente com o ensaio, especialmente quando se usa sistemas automáticos.
- A conservação da amostra biológica deve ser feita à temperatura de 2 - 8°C (5 dias) quando a dosagem não for realizada no mesmo dia. Amostras congeladas conservam-se por cerca de 30 dias. Deve-se evitar congelar e descongelar o soro por repetidas vezes.
- A lipemia e a hemólise exercem um efeito muito pequeno sobre a dosagem do TSH. Não utilizar soro com hemólise acentuada já que a hemólise dilui a amostra, diminuindo os valores de TSH. As amostras turvas devem ser centrifugadas antes do ensaio.
- As amostras de sangue colhidas em papel apropriado e secas têm estabilidade adequada para os propósitos de triagem neonatal para hipotireoidismo congênito.

Valores de Referência

- 0,3 a 4,0 mUI/L
- Em recém-nascidos: até 10,0 mUI/L

Há variações de acordo com a metodologia empregada. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus valores de referência.

Metodologias de Análise

Os métodos disponíveis são:

Imunoensaio por Quimioluminescência (CLIA)

Imunoensaio por Fluorescência Polarizada (FPIA)

Enzima Imunoensaio (EIA):

Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA)

Radioimunoensaio (RIA)

Imunoensaios para TSH

Todas as metodologias de dosagem do TSH, empregadas hoje no laboratório clínico, são baseadas em imunoensaios usando marcadores isotópicos ou não. Atualmente, devido às inconveniências do uso de material radioativo, a grande maioria dos kits presentes no mercado utilizam de imunoensaios com marcação não radioativa do antígeno ou do anticorpo.

Fundamento

O imunoensaio é o procedimento padrão para a dosagem do TSH no laboratório clínico.

O radioimunoensaio (RIA) tradicional para o TSH é baseado na competição entre o hormônio endógeno presente no soro e no padrão e o radiomarcado pelos sítios de ligação do anticorpo.

A quantidade de TSH marcado ligado ao anticorpo é inversamente relacionada com a quantidade de TSH não marcado na amostra de soro ou padrão. Entretanto, a maioria dos RIAs convencionais não pode distinguir valores normais dos sub-normais associados com hipertireoidismo.

Com o advento dos ensaios imunométricos (IMA) houve uma grande melhoria na sensibilidade da dosagem do TSH. Nesta metodologia, uma molécula do TSH do soro ou padrão forma uma ponte entre 2 ou mais anticorpos distintos anti-TSH. O primeiro anticorpo (Ac de captura), de origem monoclonal, é direcionado à sub-unidade β específica e é ancorado ao sistema de separação em fase sólida. Esse anticorpo está presente em excesso e seletivamente imunoextrai a maioria das moléculas de TSH do soro e do padrão. O TSH ligado é a seguir dosado através de um segundo anticorpo (Ac de detecção), de origem monoclonal ou policlonal, contra o TSH. Esse segundo anticorpo é direcionado contra um local antigênico distintamente diferente da molécula de TSH, por exemplo, a sub-unidade α . O anticorpo de detecção é marcado com uma molécula sinalizadora que pode ser um radioisótopo, fluoróforo ou luminescente. Ao contrário do RIA, os ensaios imunométricos têm uma curva dose-resposta positiva, com níveis maiores do sinal correspondendo a concentrações maiores de TSH, isto é, a curva padrão é ascendente. Além de melhor sensibilidade, os ensaios imunométricos são também mais rápidos e ainda apresentam uma faixa mais ampla (0,1 a 50,0 mU/L) quando comparados com os RIAs tradicionais.

Por razões práticas, os ensaios que empregam a marcação não isotópica vêm substituindo crescentemente os de marcação isotópica.

A marcação não isotópica tem sido feita com peroxidase ou fosfatase alcalina; substratos fotométricos, fluorescentes ou quimioluminescentes sensíveis são empregados para a determinação da atividade enzimática.

A classificação dos testes de TSH por geração é baseada na sensibilidade funcional, isto é, os valores mais baixos de TSH detectáveis com um coeficiente de variação interensaios de 20% ou menos. Deste modo, os RIAs de primeira geração apresentavam tipicamente um limite de detecção funcional entre 1 e 2 mUI/L. Os ensaios imunométricos subsequentes apresentam uma melhoria de cerca de 10 vezes na sensibilidade funcional (0,1 a 0,2 mUI/L) e são considerados imunoensaios de TSH de segunda geração (TSHs = TSH sensível), podendo distinguir com segurança os valores normais de TSH de valores baixos do hipertireoidismo em pacientes de ambulatório. Porém, são limitados para distinção de valores ligeiramente sub-normais (0,01 a 0,1 mUI/L) dos valores muito baixos (< 0,01 mUI/L) que são típicos da tireotoxicose.

Os ensaios imunométricos de terceira geração (TSH ultrasensível) apresentam limites de detecção ainda mais baixos (0,01 a 0,02 mUI/mL), sendo que a maioria desses ensaios emprega técnicas quimioluminescentes.

2. DOSAGEM DA TIROXINA (T₄)

Sinônimos

Tiroxina, tetraiodotironina, T₄, T₄ total

Sumário

T₄ ou tiroxina é o principal composto secretado pela tireóide, com uma produção diária de cerca de 80 µg e com uma meia-vida de 7 a 9 dias. É transportado no sangue ligado (99,95 a 99,97%) às proteínas transportadoras (TBG, prealbumina e albumina). A fração livre de T₄ corresponde de 0,03 a 0,05% e compreende a forma metabolicamente ativa do hormônio. Fisiologicamente, o T₄ é convertido em T₃ nos tecidos periféricos sendo considerado, às vezes, um prohormônio de T₃. A secreção de T₄ é estimulada pelo TSH hipofisário, havendo um controle de secreção por um mecanismo de feedback negativo a nível do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide.

Os valores de T₄ sofrem influência dos níveis das proteínas carreadoras (TBG principalmente) e devido à sua íntima relação com a TBG qualquer alteração (aumento ou diminuição) na concentração dessas proteínas provocará um aumento ou diminuição nos valores do T₄ (Tabela 3).

Fatores Interferentes

- Drogas que podem causar um aumento nos valores de T₄ são: clofibrato, estrógenos, anticoncepcionais orais, metadona, heroína, perfenazina.
- Drogas que podem causar uma diminuição nos valores de T₄ incluem: esteróides anabólicos, andrógenos, fenitoína (dilantina), fenobarbital, lítio, e drogas antitireodias (propiltiouracil).
- Os valores de T₄ podem estar aumentados após o uso de contrastes iodados.
- Durante a gravidez os valores de T₄ apresentam-se mais altos.

Amostra Biológica

- Usar preferencialmente o soro.
- O plasma colhido em EDTA ou heparina também pode ser usado. Entretanto, como o plasma tende a formar coágulos após refrigeração e congelamento/descongelamento, tais coágulos podem interferir mecanicamente com o ensaio, especialmente quando se usa sistemas automáticos.
- A estabilidade do T₄ no soro à temperatura ambiente é relativamente boa, porém a conservação da amostra biológica deve ser feita à temperatura de 2 - 8°C quando a dosagem não for realizada no mesmo dia. Amostras congeladas conservam-se por cerca de 30 dias. Deve-se evitar congelar e descongelar o soro por repetidas vezes.
- A lipemia e a hemólise exercem um efeito muito pequeno sobre a dosagem do T₄. Não utilizar soro com hemólise acentuada já que a hemólise dilui a amostra, diminuindo os valores de T₄. As amostras turvas devem ser centrifugadas antes do ensaio.
- As amostras de sangue colhidas em papel apropriado e secas têm estabilidade adequada para os propósitos de triagem neonatal para hipotireoidismo congênito.

Valores de Referência

- Primeira semana: valor médio de 15,0 µg/dL e mínimo de 8,0 µg/dL
- Até 1 mês: 8,2 a 16,6 µg/dL
- 1 a 12 meses: 7,2 a 15,6 µg/dL
- 1 a 5 anos: 7,3 a 15,0 µg/dL
- 5 a 12 anos: 6,4 a 13,3 µg/dL
- Acima de 12 anos: 4,5 a 12,0 µg/dL
- Pacientes geriátricos podem apresentar valores mais baixos.

Há variações de acordo com a metodologia empregada. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus valores de referência.

Fator de Conversão de µg/dL para S.I (nmo/L): 12,87

Metodologias de Análise

Todas as metodologias de dosagem do T₄, empregadas hoje no laboratório clínico, são baseadas em imunoenaios usando marcadores isotópicos ou não. Atualmente, devido às inconveniências do uso de material radioativo, a grande maioria dos kits presentes no mercado utilizam de imunoenaios com marcação não radioativa do antígeno ou do anticorpo.

Fundamento

Os imunoenaios atuais não necessitam da extração prévia do T₄ a partir do soro antes do ensaio, porém é necessário a dissociação do hormônio de suas proteínas de transporte. Para esse fim, emprega-se tampão de barbital ou agentes bloqueadores como o ácido amino naftaleno sulfônico (ANS), salicilato, timerosal (mertiolate) e fenitoína que inibem a ligação do T₄ na TBG.

Dependendo do marcador empregado, os imunoenaios para T₄ podem ser classificados como isotópicos e não isotópicos.

Métodos Isotópicos

● Radioimunoensaio

- O I¹²⁵ é amplamente empregado como marcador nos radioimunenaios para acompanhar e medir a distribuição do T₄ entre as frações ligada e não ligada ao anticorpo. Os kits comerciais de RIA diferem no sistema de separar as frações de T₄ marcado livre, T₄ livre e T₄ ligado ao anticorpo. A grande maioria dos kits emprega uma técnica em fase sólida com o anticorpo específico contra o T₄ química ou fisicamente ligado à parede do tubo, contas de vidro ou em partículas magnetizáveis.

Métodos Não Isotópicos

Há uma disponibilidade muito grande de metodologias não isotópicas: Imunoensaio por Quimioluminescência (CLIA), Imunoensaio por Fluorescência Polarizada (FPIA), Enzima Imunoensaio (EIA): ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, etc.

Os fundamentos químicos desses ensaios são semelhantes aos do RIA, diferenciando-se pela medida da atividade enzimática, fluorescente ou quimioluminescente em substituição à medida da radioatividade.

Os imunoenaios podem ser classificados em:

- **Heterogêneos:** são imunoenaios enzimáticos, fluorescentes ou quimioluminescentes que necessitam de uma separação do T₄ livre e ligado, podendo ser utilizados vários suportes.
- **Homogêneos:** são imunoenaios enzimáticos, fluorescentes ou quimioluminescentes que não necessitam de uma separação física do T₄ livre e ligado.

Existem vários marcadores não isotópicos sensíveis para a determinação do T₄. Por exemplo, enzimas como a peroxidase de “rábano silvestre” (raiz forte), fosfatase alcalina e com β-galactosidase são muito usadas (EIA, EMIT, CEDIA), ELISA), bem como, moléculas fluorescentes (FPIA, FIA) e quimioluminescentes (CLIA).

Como exemplos desses ensaios, podemos citar:

- Enzima Imunoensaio (EIA = Enzyme Immunoassay)
- Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA = Enzyme Linked Imuno Sorbent Assay)
- Imunoensaio Multiplicado por Enzima (EMIT = Enzyme-Multiplied Immunoassay)
- Imunoensaio com Doador Clonado de Enzima (CEDIA = Cloned Enzyme Donor Immunoassay).
- Imunoensaio por Fluorescência Polarizada (FPIA=Fluorescence Polarisation Immunoassay)
- Imunoensaio por Quimioluminescência (CLIA = Chemiluminescence Immunoassay)

3. DOSAGEM DA TRIIODOTIRONINA (T₃)

Sinônimos

Triiodotironina, T₃, T₃ total.

Sumário

T₃ ou triiodotironina é um hormônio tireoidiano produzido principalmente pela conversão periférica do T₄, apresenta uma atividade biológica maior do que o T₄ e se liga mais fracamente à TBG. Sua produção diária é de cerca de 30 µg e tem uma meia-vida de 1,5 a 3 dias.

O T₃ é transportado no sangue ligado à TBG (≈ 100%). A fração livre de T₃ corresponde de 0,2 a 0,5% e compreende a forma metabolicamente ativa do hormônio.

A secreção de T₃ é estimulada pelo TSH hipofisário, havendo um controle de secreção por um mecanismo de feedback negativo a nível do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. Os valores de T₃ sofrem influência dos níveis das proteínas carreadoras (TBG principalmente) e devido à sua íntima relação com a TBG qualquer alteração (aumento ou diminuição) na concentração dessa proteína provocará um aumento ou diminuição nos valores do T₃ (Tabela 3).

A dosagem do T₃ é indicada em pacientes com TSHs diminuído com T₄ Livre e/ou T₄ total normais. A dosagem do T₃ é também útil na avaliação de estados hipertireóides, particularmente no diagnóstico da tireotoxicose em que o T₃ está elevado e o T₄ normal.

Fatores Interferentes

Os mesmos já vistos para o T₄.

Amostra Biológica

Ver T₄.

Valores de Referência

- Os valores da infância e da criança são mais altos do que os do adulto.
- Adultos: 80 a 200 ng/dL
- Pacientes geriátricos podem apresentar valores mais baixos.

Há variações de acordo com a metodologia empregada. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus valores de referência.

Fator de Conversão de µg/dL para S.I (nmo/L): 0,015

Metodologias de Análise

Como para a dosagem do T₄, são empregados as metodologias de imunoenaios isotópicos e não isotópicos na dosagem do T₃.

• Métodos Isotópicos

Existe uma variedade de kits comerciais para dosar o T₃ total no soro. As técnicas são semelhantes às do T₄, exceto que se emprega como traçador o T₃ marcado com I¹²⁵ e um anticorpo específico para T₃. Como nas técnicas de T₄, emprega-se frequentemente o ANS (amino naftol sulfônico) para liberar o T₃ de da TBG. Os sistemas em fase sólida são preferidos aos de fase líquida para separar o hormônio ligado do livre.

• Métodos Não Isotópicos

Os ensaios não isotópicos disponíveis para a dosagem do T₃ são os mesmos empregados para o T₄. A maioria dos kits comerciais emprega a peroxidase ou a fosfatase alcalina para marcar os antígenos T₃ ou os anticorpos contra T₃. A atividade enzimática é comumente determinada pelo uso de vários substratos fotométricos, fluorescentes ou quimioluminescentes sensíveis.

Há também imunoenaios para T₃ que usam marcadores fluorescentes e quimioluminescentes.

Como para o T₄, os métodos podem também ser heterogêneos ou homogêneos.

4. DETERMINAÇÃO DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS LIVRES (T₃ E T₄ LIVRES)

Sinônimos:

T₄ livre: tiroxina livre, FT₄, T₄L, T₄ não ligado

T₃ Livre: triiodotironina, FT₃, T₃L, T₃ não ligado

Índice de Tiroxina Livre: ITL, FT₄I, FTI

Sumário

T₄ e T₃ circulam no sangue na forma de misturas em equilíbrio entre os hormônios livres e as porções ligados às proteínas carreadoras, TBG principalmente. As alterações na concentração ou na afinidade da TBG afetam profundamente a concentração total dos hormônios no soro. Já, a concentração dos hormônios livres independem dessas variações, permanecendo em uma concentração constante no soro.

As frações livres de T₃ e T₄ são muito pequenas (respectivamente 0,3% e 0,03% do total), mas são responsáveis pela regulação do metabolismo celular e pelo controle da secreção através do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. Como a dosagem do T₄ total e do T₃ Total sofrem a influência das proteínas transportadoras, as metodologias desenvolvidas para a determinação das frações livres do T₄ e do T₃ vieram solucionar os problemas relacionados com as variações da TBG. Portanto, a dosagem direta do T₄ livre (FT₄) ou sua estimativa através do Índice de Tiroxina Livre (ITL, ou FT₄I) reflete de uma maneira bastante precisa o verdadeiro estado tireometabólico do paciente.

Amostra Biológica

Ver T₄

Valores de Referência

- T₄ Livre: 0,8 a 1,5 ng/dL - **Fator de Conversão de ng/dL para S.I (pmo/L): 12,87**
- T₃ Livre: 0,30 a 0,51 ng/dL - **Fator de Conversão de ng/dL para S.I (pmo/L): 0,015**

Estes valores podem variar significativamente em função da metodologia empregada.

Cada laboratório, deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Metodologias de Análise

Considerando que a dosagem do T₄ Livre é muito mais empregada do que a do T₃ Livre, nesse manual iremos abordar exclusivamente as metodologias utilizadas na sua determinação.

A dosagem do T₄ livre constitui-se na evolução natural da dosagem do T₄ total, porque elimina a problemática das variações dos níveis da globulina transportadora (TBG).

A dosagem das frações livres dos hormônios tireoidianos (T₄ e T₃) apresenta alguns problemas técnicos a saber:

- as baixas concentrações dos hormônios livres, 0,03% de T₄ total e 0,3% de T₃ total, requerem uma sensibilidade metodológica muito alta (abaixo do picomol).
- a técnica tem que prevenir distúrbios no equilíbrio entre a fração livre e ligada no decorrer do procedimento.
- os soros de alguns pacientes, especialmente os portadores de doenças não tireoidianas parecem conter inibidores e outros interferentes que podem invalidar as determinações das frações livres.

Dois métodos de referência foram desenvolvidos para a dosagem do T₄ Livre:

- Dosagem do T₄ livre por imunoensaio após diálise de equilíbrio em condições padronizadas. O dialisado é a seguir analisado diretamente através de um imunoensaio específico e sensível. Como é uma metodologia que consome muito tempo e bastante trabalhosa, praticamente não é empregada nos laboratórios clínicos.
- Hoje em dia, os laboratórios clínicos utilizam-se de métodos de imunoensaios (EIA, CIA, FPIA, ou RIA) que estão disponíveis comercialmente, na forma de kits.

4a- T4 Livre (FT4) por imunoensaios em 2 etapas

Essa metodologia emprega tubos com paredes recobertas de anticorpo anti-T4, que se fixa ao T4 livre do soro, mas não combina com o T4 ligado às proteínas séricas. Em seguida, remove-se o soro do paciente, lava-se o tubo e adiciona-se o T4 marcado com isótopo ou enzima. Após a incubação, remove-se a solução de T4 marcado. Ao final, determina-se a quantidade de T4 marcado, que foi fixado pelo anticorpo na parede do tubo, e que é inversamente proporcional à quantidade de T4 Livre (FT4) na amostra analisada.

4b- T4 Livre (FT4) por imunoensaio pela técnica do “análogo de T4”

Na atualidade, é o processo mais usado por ser de execução bem mais fácil e apresentar menor custo. Apresenta excelente funcionalidade e é muito bom para diferenciar pacientes eutiroideos de pacientes hiper e hipotiroideos.

Essa técnica emprega uma molécula sintética análoga de T4 (semelhante) que não se liga à TBG, mas que compete com o T4 Livre (fração não ligada) pelo anticorpo anti-T4, que recobre as paredes do tubo. A molécula do análogo de T4 é marcada com enzima ou isótopo, de tal modo que a quantidade de análogo ligado ao anticorpo é inversamente proporcional à quantidade de T4L disponível.

5. DOSAGEM DA TIREOGLOBULINA

Sinônimos: Tg

Sumário

A tireoglobulina é uma glicoproteína iodada de alto peso molecular, secretada pelo epitélio folicular da tireóide e funciona como uma forma de armazenamento de T3 e T4 dentro da glândula. Os valores de Tg encontram-se elevados no carcinoma folicular e no papilar da tireóide, no adenoma tireoidiano, na tireoidite sub-aguda, na tireoidite de Hashimoto e na doença de Graves. Já no carcinoma medular da tireóide, os valores da Tg não são elevados. A sua dosagem serve de marcador para o acompanhamento de pacientes portadores de carcinomas tireoidianos (papilífero e folicular) e também como marcador de atividade de processos inflamatórios da tireóide, como as tireoidites. É ainda muito útil para detectar recidivas do carcinoma diferenciado da tireóide após ressecção cirúrgica ou ablação pelo iodo radioativo.

Fatores Interferentes

- O principal problema com a dosagem da Tg é a presença no soro de anticorpos endógenos anti-Tg, gerando resultados baixos nos métodos imunométricos e elevados nos radioimunoensaios.
- Sensibilidade funcional inadequada de alguns kits disponíveis.
- Por falta de uma padronização internacional, pode haver uma grande variabilidade entre os métodos disponíveis.

Amostra Biológica

Usar soro. Observar os mesmos critérios explicitados para a dosagem do T4.

Valores de Referência

- Geralmente < 40 ng/mL em pacientes eutiroideos e < 5 ng/mL ou indetectáveis em pacientes tireoidectomizados.

Há variações de acordo com a metodologia empregada. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

Fator de Conversão de ng/mL para S.I (µg/L): 1

Metodologias de Análise

Na dosagem da Tg, como para a dosagem do T4, são empregados as metodologias de imunoensaios isotópicos e não isotópicos (RIA, EIA, IRMA, ETC).

6. PESQUISA DE ANTICORPOS ANTITIREOIDIANOS

6a . Anticorpo Anti-Tireoglobulina (Anti-Tg)

6b . Anticorpo Anti-Tireoperoxidase (Anti-TPO)

Embora exista uma variedade de anticorpos antitireoidianos, somente os anticorpos anti-tireoglobulina (anti-Tg) e anticorpos antitireoperoxidase (anti-TPO, antigo anti-microsomal) são comumente utilizados na avaliação da função tireoidiana.

A presença de anticorpos anti-tireóide (anti-Tg e anti-TPO) em títulos significativos no soro de um paciente indica a atividade de um processo auto-imune. Portanto, a pesquisa desses anticorpos é bastante importante para elucidação do diagnóstico de uma variedade de doenças da tireóide, especialmente da tireoidite auto-imune ou de Hashimoto.

A pesquisa dos anticorpos anti-tireoidianos (anti-Tg e anti-TPO) é de fundamental importância para o diagnóstico seguro da tireoidite de Hashimoto.

Amostra

Usar soro, que deve ser guardado congelado se o teste não for realizado no mesmo dia da coleta. Evitar congelamento e descongelamento repetidos.

Metodologias de Análise

As técnicas laboratoriais empregadas para análise dos anticorpos antitireoidianos são: HEMAGLUTINAÇÃO, ELISA, IRMA e RIA.

7. OUTROS TESTES DE APLICAÇÃO NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDIANA

7a . Dosagem da TBG

A indicação principal para a dosagem da TBG sérica é nos casos de T4 Total elevado, em que se suspeita que a elevação se deva a um aumento da TBG, especialmente por ingestão de estrógenos. Entretanto, com a utilização da dosagem do T4 Livre, a dosagem da TBG passou a não ter valor nessas circunstâncias. Ela pode ser útil na confirmação diagnóstica de casos de deficiência congênita de TBG, que ocorre numa proporção aproximada de 1/9.000 nascidos vivos.

7b . Dosagem do T3 Reverso

A aplicação desse teste é limitada às condições em que se deseja verificar um desvio do metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos, como por exemplo, nas doenças sistêmicas graves e no uso de algumas drogas.

7c . Teste de Estímulo com TRH

Este teste perdeu muito de sua aplicação com o surgimento dos testes de TSHs. A sua utilidade era para distinguir os valores normais do TSH daqueles de pacientes com hipertireoidismo. Atualmente, o teste pode ser empregado para o estudo da reserva hipofisária de TSH

7d . Pesquisa de Anticorpos Anti-receptor de TSH (TRAB)

É um teste útil na confirmação de atividade da doença de Basedow Graves, podendo ainda ser importante no acompanhamento de pacientes portadores dessa doença e também no diagnóstico etiológico diferencial de hipertireoidismo.

7e . Dosagem da Calcitonina

Secretada pelas células parafoliculares da tireóide (células C), a calcitonina é um hormônio polipeptídico composto de 32 aminoácidos. Com o advento de ensaios imunométricos empregando anticorpos monoclonais houve uma acentuada melhoria na sensibilidade e especificidade diagnóstica na dosagem da calcitonina.

É um teste muito útil para o diagnóstico e o acompanhamento de pacientes com carcinoma medular da tireóide com origem nas células parafoliculares.

IMUNOENSAIOS

Os imunoenaios mais frequentemente empregados no laboratório clínico podem ser classificados como:

1. IMUNOENSAIOS COMPETITIVOS

São testes em que as quantidades do anticorpo (Ac) e do antígeno marcado (Ag*) adicionado em cada reação é constante e limitante. Deste modo, as quantidades relativas de Ag marcado (Ag*) ligado ao anticorpo (Ac) e a quantidade de Ag que ficou livre em solução são determinadas pela quantidade de Ag não marcado ou hapteno presente na amostra do paciente, nos padrões ou nos controles.

Exemplos: EIA, ELISA, RIA, FIA

Este tipo de reação de ligação competitiva pode ser subdividido em 2 categorias:

1a . IMUNOENSAIOS COMPETITIVOS HETEROGÊNEOS

São imunoenaios competitivos em que o Ag marcado (Ag*) ligado ao anticorpo (Ac), complexo antígeno marcado-anticorpo (Ag*Ac), necessita ser separado fisicamente do antígeno marcado (Ag*) que permanece livre na solução. A separação pode ser feita por precipitação com polietilenoglicol (PEG) ou pela adição de um segundo anticorpo (2° Ac), que se liga e precipita o Ac original.

Na técnica de ELISA, a separação é feita através da fixação do Ac nas paredes do tubo plástico, ou em contas (bolas) de plástico, de tal modo que a solução contendo o Ag* livre (que não se ligou ao Ac) pode ser facilmente eliminado.

1b . IMUNOENSAIOS COMPETITIVOS HOMOGÊNEOS

São imunoenaios competitivos em que não há a necessidade de se proceder à separação física do Ag marcado (Ag*) ligado ao Ac (complexo Ag*Ac) do Ag* livre (porção que não se ligou ao Ac).

Exemplo: EMIT

IMUNOENSAIOS ISOTÓPICOS HETEROGÊNEOS

RADIOIMUNOENSAIO (RIA)

São imunoenaios de ligação competitiva heterogêneos empregando marcação isotópica que podem ser utilizados na determinação de uma variedade muito grande de substâncias, como hormônios, proteínas, drogas, etc.

A especificidade do RIA depende da habilidade de um Ac reconhecer seu único Ag em uma mistura heterogênea.

A sensibilidade do teste depende da atividade específica do radioisótopo empregado, ou seja da capacidade de emissão de partículas alfa, beta ou raios gama por unidade de peso do Ag radioisotopicamente marcado.

Fundamento

Os radioisótopos mais usados são o ^{125}I , ^3H e ^{14}C .

- Incubar uma quantidade limitada Ac específico (suficiente para ligar 40 a 60% do Ag radiomarcado) com uma quantidade fixa de Ag* mais o Ag presente na amostra analisada, nos padrões ou nos controles.
- Haverá uma competição entre o Ag* e o Ag não marcado (da amostra, padrões ou controles) pelo número limitado de sítios de ligação da molécula do Ac.
- Após o equilíbrio da reação, os complexos Ag-Ac e Ag*-Ac são separados dos Ag e Ag*, e a radioatividade é contada.
- Calcula-se a relação B/T, que compreende a relação entre as contagens do complexo Ag*-Ac (B) e a contagem total do Ag* total adicionado ao sistema (T). Esta relação decresce quando a concentração do analito na amostra ou padrões cresce.

A curva padrão é, portanto, decrescente.

$$B/T \times 100 = B\%$$

IMUNOENSAIOS NÃO ISOTÓPICOS HETEROGÊNEOS

São imunoenaios que empregam uma marcação não isotópica do Ag ou do Ac e que necessitam da separação física do complexo Ag*Ac do Ag*

1. EIA - ENZYME IMMUNOASSAY - ENZIMA IMUNOENSAIO

Utilizam enzimas como marcadores do Ag* ou haptenos. As enzimas através de reações com o substrato irão produzir compostos que podem ser determinados por fotometria no visível ou no UV, por fluorescência ou ainda por quimioluminescência, dependendo do substrato usado.

Fundamento

- É semelhante ao do RIA, com o Ag ou hapteno sendo marcado com uma enzima estável, em substituição ao radionuclídeo.
- A especificidade do EIA depende da especificidade do Ac em se ligar ao seu Ag ou hapteno.
- No EIA há uma competição entre o enzima marcado (E*) e o Ag ou hapteno não marcado (Ag) para se ligar a uma quantidade limitada do Ac.
- As enzimas mais utilizadas são: a glicose 6-fosfato-desidrogenase que gera NADH, a fosfatase alcalina que hidrolisa o p-nitrofenilfosfato formando p-nitrofenol (amarelo) e a beta-galactosidase que quebra o produto fluorescente do substrato.

2. FIA - FLUORESCENCE IMMUNOASSAY - IMUNOENSAIO FLUORESCENTE

Fundamento

- É semelhante ao do RIA e do EIA, com a diferença no marcador que é um composto fluorescente. A marcação do Ag (hormônio, drogas, etc) é feita com uma substância (fluoroforo) que emite fluorescência quando irradiada com energia (luz) de determinado comprimento de onda.
- O Ag ou hapteno marcado (Ag*) compete com o Ag não marcado presente no soro, nos padrões ou nos controles, pela quantidade limitada do Ac específico.
- A concentração do Ag não marcado (analito presente na amostra) é determinada a partir de uma curva padrão.
- No FIA, a substância marcadora tem a capacidade de emitir fluorescência, ou um hapteno marcado com enzima libera um fluorocromo após incubação com seu substrato.

3. ELISA (ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY) - ENSAIO IMUNOABSORVENTE LIGADO A ENZIMA

Fundamento

- O Ac é adsorvido sobre a superfície sólida da parede do tubo plástico, ou câmara de reação, ou contas (bolinhas) de plástico.
- O Ag da amostra (hormônio ou droga), dos padrões ou dos controles e uma quantidade fixa do Ag marcado com a enzima são adicionados ao tubo para competirem pelo número limitado de sítios de ligação do Ac.
- O Ag marcado com a enzima não ligado é eliminado pela decantação do sobrenadante.
- A atividade enzimática do Ag marcado ligado ao Ac é determinada por incubação com o substrato.
- A concentração do Ag na amostra do paciente é obtida a partir de uma curva padrão.

IMUNOENSAIOS NÃO ISOTÓPICOS HOMOGÊNEOS

São imunoenaios de marcação não isotópica, que não necessitam separar fisicamente a fração de Ag marcado ligada ao Ac da fração livre (não ligada).

1. EMIT - ENZYME MULTIPLIED IMMUNOASSAY TECHNIQUE - TÉCNICA DE IMUNOENSAIO MULTIPLICADA POR ENZIMA

Fundamento

- Incubar a amostra biológica com uma solução contendo o Ac, o complexo Enzima-Ag ou hapteno e o substrato tamponado. O hormônio (Ag) é marcado com a enzima.
- Medir a velocidade da reação através da medida da variação da absorvância ocorrida com o aparecimento do NADH.

- Nesta técnica, a molécula de Enzima-Ag é enzimaticamente ativa, enquanto que a porção que se ligou ao Ac tem sua atividade drasticamente reduzida, em função do impedimento estérico. O Ac bloqueia a ligação do substrato com a enzima.
- A concentração do analito é determinada a partir de uma curva de calibração.

2. FPIA - FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY - IMUNOENSAIO DE FLUORESCÊNCIA POLARIZADA

Fundamento

- Certas moléculas orgânicas emitem ondas no plano polarizado, por um período de tempo curto, após serem excitadas pela luz polarizada. Essa polarização da fluorescência depende do tempo de vida da fluorescência (tempo entre a excitação e a emissão) e do tempo de relaxação rotacional da molécula (tempo necessário para que a molécula orientada retorne).

ENSAIOS IMUNOMÉTRICOS

São ensaios em que a marcação é feita na molécula do anticorpo (Ac) em lugar do antígeno (Ag). Também, nesses ensaios a marcação pode ser feita com isótopo ou não.

Emprega-se um excesso de Ac, ao contrário dos ensaios de ligação competitiva. Deste modo, todo o Ag da amostra fica ligado ao Ac, aumentando a sensibilidade do ensaio em relação aos de ligação competitiva.

Os ensaios imunométricos são classificados em:

1. IMUNORADIOMÉTRICOS - IRMA

Quando a marcação do Ac é feita com um radioisótopo.

2. IMUNOENZIMÉTRICOS - IEMA

Quando a marcação do Ac é feita com um enzima.

Os ensaios imunométricos (IRMA e IEMA) podem ser de 1 ou 2 sítios:

ENSAIOS DE 1 SÍTIO

Fundamento

- O Ag complexado com o Ac marcado é seletivamente precipitado.
- O Ac marcado é misturado com a amostra do paciente, padrões ou controles e o complexo Ag-Ac resultante é precipitado (por exemplo, com sulfato de amônio).
- A quantidade de marcado no precipitado é então determinada através da contagem da radioatividade ou pela medida da atividade enzimática do marcado.
- A concentração do teste é obtida através da curva de calibração.

ENSAIOS DE 2 SÍTIOS

Fundamento

- O ensaio emprega 2 anticorpos (Ac) contra diferentes porções antigênicas do hormônio.
- O primeiro Ac encontra-se ligado (aderido) a um suporte sólido (por exemplo, na parede do tubo plástico da reação, na placa de microtitulação, microcâmara, etc)
- Após a ligação do Ag com o Ac imobilizado no suporte da reação, o segundo Ac é adicionado para formar um sistema de sanduíche com o Ag entre os 2 anticorpos.
- O excesso do segundo Ac marcado pode ser eliminado por decantação.
- A atividade enzimática ou a radioatividade do Ac marcado (com enzima ou isótopo) ligado é determinada pela medida de sua reação com o substrato adicionado ou pela contagem da radioatividade presente.

BIBLIOGRAFIA

1. Braverman, LE. Evaluation of Thyroid Status in Patients with thyrotoxicosis. Clin. Chem. 42:1, 174-178, 1996.
2. Burtis, CA, Ashwood, ER. Tietz Fundamentos de Química Clínica, 4^a. ed., Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro, 1998.
3. Demers LM. Standards of laboratory practice symposium on thyroid-function testing: Introduction. Clin. Chem. 42:1, 119-120, 1996.
4. Di Dio, R, Barbério, JC, Pradal, MG, Menezes, MAS. Procedimentos Hormonais, 4^a. ed., CRIESP, São Paulo, 1996.
5. Feldt-Rasmussen, U. Analytical and Clinical Performance Goals for Testing Autoantibodies to Thyroperoxidase, Thyroglobulin, and Thyrotropin Receptor. Clin. Chem. 42:1, 160-163, 1996.
6. Fisher, DA. Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations. Clin. Chem. 42:1, 135-139, 1996.
7. Greenspan, FS, Strewler, GJ. Basic & Clinical Endocrinology, 5^a. ed., Appleton & Lange, 1997.
8. Jacobs, DS, Demott, WR, Grady, HJ, Horvat, RT, Huestis, DN, and Karten JR, BL. Laboratory Text Book, 4^a. ed., Lexi-Comp Inc., Hudson, 1996.
9. Kaplan, A, Jack, R., Opheim, KE, Toivola, B., and Lyon, AW. Clinical Chemistry - Interpretation and Techniques, 4^a. ed., Malvern, Williams & Williams, 1995.
10. Keffer, JH. Preanalytical considerations in testing thyroid function. Clin. Chem. 42:1, 125-134. 1996.
11. Klee, GG. Clinical Usage Recommendations and Analytical Performance Goals for Total and Free Triiodothyronine Measurements. Clin. Chem. 42:1, 155-159. 1996.
12. Ladenson, PW. Optimal Laboratory Testing for Diagnosis and Monitoring of Thyroid Nodules, Goiter, and Thyroid Cancer. Clin. Chem. 42:1, 183-187, 1996.
13. Nelson, JC., and Wilcox, RB. Analytical Performance of Free and Total Thyroxine Assays. Clin. Chem. 42:1, 146-154. 1996.
14. Pagana, KD. and Pagana, TJ. Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference, 3^a. ed., Mosby-Year Book Inc., St. Louis, 1997.
15. Ridgway, EC. Modern Concepts of Primary Thyroid Gland Failure. Clin. Chem. 42:1, 179-182, 1996.
16. Spencer, CA., Takeuchi, M. and Kazarosyan, M. Current Status and Performance Goals for Serum Thyrotropin (TSH) Assays. Clin. Chem. 42:1, 140-145, 1996.
17. Spencer, CA., Takeuchi, M. and Kazarosyan, M. Current Status and Performance Goals for Serum Thyroglobulin Assays. Clin. Chem. 42:1, 164-173. 1996.
18. Stockigt, JR. Guidelines for Diagnosis and Monitoring of Thyroid Disease: Nonthyroidal Illness. Clin. Chem. 42:1, 188-192, 1996.
19. Vieira, JGH. e Maciel, RMB. Diagnóstico Laboratorial das Endocrinopatias, 2^a. ed., Laboratório Fleury, São Paulo, 1998.
20. Wilson, JB. and Foster, DW. Williams Textbook of Endocrinology, 8^a. ed., Philadelphia, W. B. Saunders, 1992.
21. Simpósio da NACB (National Academy of Clinical Biochemistry)– Clin. Chem. 42, 119-192 (1996)
22. NACB: American Thyroid Association (ATA), Endocrine Society, American Association of Clinical Endocrinologists, American Association for Clinical Chemistry e Clinical Ligand Assay Society.