

مدیریت خطاهای آزمایشگاهی در حوزه اندازه گیری  
تست های عملکردی تیروئید

**Management of laboratory errors in  
Thyroid function tests assessment**

تهیه و تنظیم : دکتر مهرداد ونکی

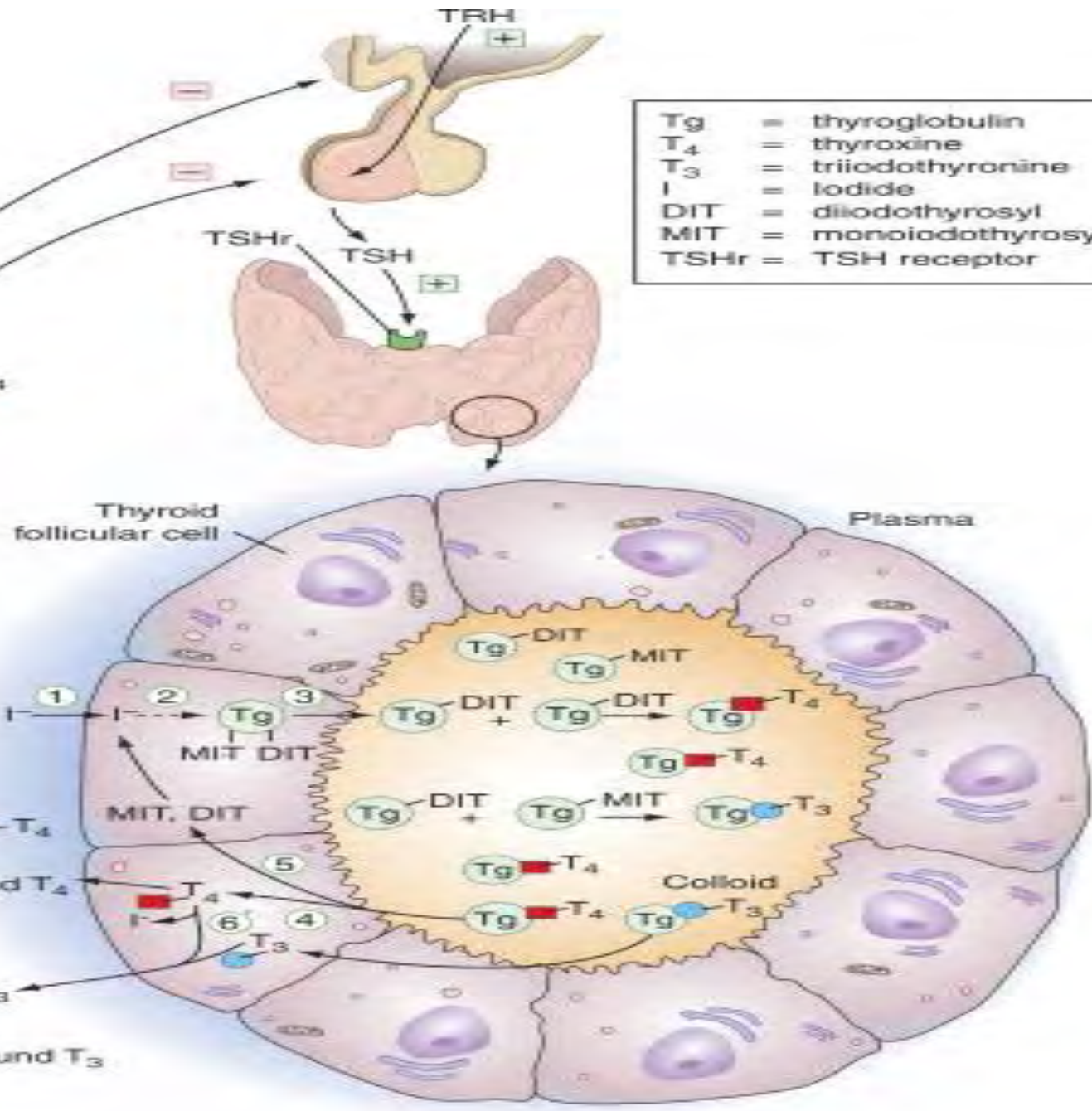
Hypothalamus

Anterior pituitary

Thyroid

Free T<sub>3</sub>  
Free T<sub>4</sub>

Tg	=	thyroglobulin
T <sub>4</sub>	=	thyroxine
T <sub>3</sub>	=	triiodothyronine
I	=	Iodide
DIT	=	diiodothyrosyl
MIT	=	monoiodothyrosyl
TSHr	=	TSH receptor



Thyroid follicular cell

Plasma

Colloid

Protein

Protein bound T<sub>4</sub>

Free unbound T<sub>4</sub>

Protein

Protein bound T<sub>3</sub>

Free unbound T<sub>3</sub>

# Characterization of Thyroid Disorders According to Results of Thyroid Function Tests

Disorder	TSH	T <sub>4</sub>	T <sub>3</sub>	FT <sub>4</sub>	Tg	TBG	rT <sub>3</sub>	ATPO	ATG	TBII	TSI	TBA
Primary hypothyroidism	↑	↓	N or ↓	↓	N or ↓	N	↓	N or ↑	N or ↑	N or ↑	n	n or ↑
Transient neonatal hypothyroidism	↑	↓	↓	↓	N or ↓	N	↓	N	N	↑	n	↑
Hashimoto thyroiditis hypothyroidism	↑	N or ↓	N or ↓	N or ↓	N or ↓	N	↓	↑	↑	n or ↑	n	n or ↑
Graves' disease	↓	↑	↑	↑	↑	N	↑	↑	↑	↑	↑	n or ↑
Neonatal Graves' disease	↓	↑	↑	↑	↑	N	↑	n or ↑	n or ↑	↑	↑	n or ↑
TSH deficiency	N or ↓	↓	↓	↓	↓	N	↓	n	n	n	n	n
Thyroid dishormonogenesis	↑	↓	↓	↓	N, ↓ or ↑	N	↑	n	n	n	n	n
Thyroid hormone resistance	N or ↑	↑	↑	↑	↑	N	↑	n	n	n	n	n
TSH-dependent hyperthyroidism	↑	↑	↑	↑	↑	N	↑	n	n	n	n	n
T <sub>4</sub> protein-binding abnormalities <sup>[4]</sup>	N	V	V	N	N	V+	V	n	n	n	n	n
Nonthyroidal illness	V	N or ↓	↓	V	N	N	N or ↑	n	n	n	n	n
Subacute thyroiditis <sup>[4]</sup>	↓ or ↑	↑ or ↓	↑ or ↓	↑ or ↓	↑ or ↓	N	↑ or ↓	n	n	n	n	n

# نوسانات نتایج و بی اعتمادی کلینیسین ها به آزمایشگاه های بالینی

یکی از مشکلات جامعه آزمایشگاهی و بالینی **عدم مدیریت صحیح تغییرات و نوسانات نتایج تست های عملکردی تیروئید** می باشد که زمینه ساز کاربرد تفسیر ها و پروتکل های درمانی نادرست جهت این گروه از بیماران می گردد و نهایتاً منجر به بی اعتباری و بی اعتمادی پزشکان بالینی به نتایج ارائه شده توسط مراکز آزمایشگاهی گردیده است .

# نوسانات نتایج و بی اعتمادی کلینیسین ها به آزمایشگاه های بالینی

نوسانات نتایج پانل تیروئیدی نمونه برداری های مکرر عمدتاً تحت اثر نوسانات بیولوژیک / سندرم یا بیماری های غیر تیروئیدی / مصرف دارو / فعالیت فیزیکی / سیرکادین سیکل ( به عنوان مثال در سیکل شبانه روزی هورمون محرک تیروئید در ساعات نیمه شب پیک ماکزیمم غلظت هورمون و در ساعات عصر پیک مینیمم می باشد ) و سایر عوامل خارج آزمایشگاهی مرتبط با بیمار می باشد و از طرفی بایستی پذیرفت که عمده نوسانات و تغییرات نتایج آزمایش بر روی یک نمونه ( در یک ردیف کاری ) مرتبط با خطا های آنالیتیکال یا آزمایشگاهی می باشد که بایستی با طراحی برنامه تضمین کیفی مناسب ( استفاده از کیت ها و تجهیزات اتومیشن معتبر و کارکنان با صلاحیت و .. ) این گروه خطاها را کنترل نموده و در محدوده مجاز و قابل قبول هدایت نمائیم در ضمن خطای آنالیتیکال یا عدم قطعیت مجاز تست های آزمایشگاهی تیروئید بایستی در محدوده ای باشد که به تصمیم گیری بالینی پزشک برای افتراق فرد سالم از بیمار لطمه ای وارد ننماید.

Analyte	Biological Variation CVw	Biological Variation CVg	Desirable specification I(%)	Desirable specification B(%)	Desirable specification TE(%)
Thyroglobulin	14.0	39.0	7.0	10.4	21.9
Thyroglobulin antibody	8.5	82.0	4.3	20.6	27.6
Thyroid peroxidase antibody	11.3	147.0	5.7	36.9	46.2
<b>Thyroid stimulating hormone (TSH)</b>	<b>19.3</b>	<b>24.6</b>	<b>9.7</b>	<b>7.8</b>	<b>23.7</b>
Thyrotropin receptor antibody	4.8	---	2.4	---	---
<b>Thyroxine (T4)</b>	<b>4.9</b>	<b>10.9</b>	<b>2.5</b>	<b>3.0</b>	<b>7.0</b>
<b>Thyroxine, free (FT4)</b>	<b>5.7</b>	<b>12.1</b>	<b>2.9</b>	<b>3.3</b>	<b>8.0</b>

- **CV<sub>w</sub> = within-subject biologic variation**  
**CV<sub>g</sub> = between-subject biologic variation**  
**I = desirable specification for imprecision**  
**B = desirable specification for inaccuracy**  
**TE = desirable specification for allowable total error**

# محور اصلی خطاهای آزمایشگاهی در حوزه تست های تیروئید

- 1- استفاده از روش های دستی ایمونواسی با حجم تست های بسیار بالا که قطعا در این شرایط ضریب خطاهای انسانی و آنالیتیکال بسیار بالا و اجتناب پذیر خواهد بود**
- 2- کاربرد کیت های غیر معتبر و ارزان قیمت بدون تائیدیه های ملی ( رفرانس یا اداره کل تجهیزات ) یا بین المللی با تکرارپذیری و دقت نامناسب**
- 3- عدم استفاده یا استفاده ناقص از کنترل های دقت و صحت و کالیبراتور های مناسب در هر ردیف کاری تیروئید**
- 4- عدم استفاده از میانگین نتایج بیماران و نمونه های کنترلی بیماران ( از ران کاری قبلی ) در هر ردیف کاری تست های تیروئید جهت شناسایی خطاهای سیستماتیک**



# Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)

The radioimmunoassay for measuring TSH was first developed by Odell and colleagues in 1965. By the mid-1980s a 'sensitive' immunometric TSH method using either monoclonal or polyclonal antibodies was developed which had an improved sensitivity to 0.1-0.2 mU/L. A third-generation nonisotopic immunometric TSH assay using a chemiluminescent label was developed in the 1990s; this is the assay method which is currently in common use. Its sensitivity was reduced to about 0.005 mU/L, which is 100 times more sensitive than the most 'sensitive' TSH assay and 1000 times more sensitive than radioimmunoassay methods. Although a fourth-generation TSH assay has recently been developed with a sensitivity of 0.0004 mU/L, in addition to it not being widely available the third-generation assays provide sufficient sensitivity for the vast majority of clinical applications. The American Thyroid Association (ATA) recommendations state that third-generation assays should be able to quantitate TSH in the 0.010-0.020 mU/L range on an interassay basis with a coefficient of variation of 20% or less..

# محور اصلی خطاهای آزمایشگاهی

## در حوزه تست های تیروئید

**5- استفاده از کارکنان کم صلاحیت با ضریب خطای پرسنی بالا در حوزه تست های هورمونی**

**6- استفاده از تجهیزات دستی یا اتومیشن غیر معتبر و بدون کالیبراسیون مناسب**

**7- عدم استاندارد سازی شرایط محیطی تست های ایمونواسی که شدیداً متاثر از نوسانات دمائی و رطوبت محیط می باشند**

**8- فقدان برنامه کیفی برای کاهش خطاهای قبل از آنالیز و پس از آنالیز از جمله زمان نمونه گیری از بیمار / نحوه نمونه گیری و انتقال و آماده سازی نمونه های پاتل تیروئید / نحوه نگهداری و ذخیره سازی نمونه های سرم قبل از آزمایش و پس از آزمایش / مغایرت مقادیر مرجع تعریف شده جهت تست های تیروئید متناسب با مراجع بین المللی معتبر و متناسب با شرایط سن بیمار و...**

# غربالگری هیپوتیروئیدیسم نوزادان

شناسائی زود هنگام و سریع هیپو تیروئیدیسم نوزادان در پیشگیری و جلوگیری عقب ماندگی ذهنی نوزاد دارای اهمیت زیادی می باشد لذا اندازه گیری تیروکسین و هورمون محرک تیروئید در هفته اول پس از زایمان بر روی نوزاد الزامی می باشد تست ساده غربالی به روش لکه ای و با استفاده از لکه خون خشک شده ( پاشنه پا

نوزاد) یا سرم بند ناف انجام می گیرد . **زمان ایده ال برای نمونه برداری 24 ساعت پس از شروع تغذیه پروتئینی نوزاد ( با شیر) یا 3 الی 6 روز پس از تولد می باشد** و بهتر است این تست قبل از ترخیص نوزاد از بیمارستان صورت گیرد ( جهت پیشگیری از عواقب تشخیص دیررس )

نتایج دارای تیروکسین پائین می تواند نشانه هیپوتیروئیدیسم نوزاد باشد و بهتر است تست غربالگری محدود به تیروکسین نباشد و همراه با تست محرک تیروئید انجام شود و نهایتاً تست های با نتیجه تیروکسین پائین و هورمون محرک بالا به مراکز معتبر جهت انجام تست تائیدی و اورژانس ارسال گردد ( پس از تائید نهائی در صورت تائید هیپو تیروئیدی نوزاد بایستی بلافاصله درمان توسط پزشک شروع گردد )

**نکته :** توصیه می گردد در بچه هائی با وزن پائین یا پره مچور غربالگری اضافی و تکمیلی علاوه بر هفته اول در هفته های 2 و 4 و 6 صورت گیرد تا تشخیص هیپوتیروئیدی با شروع دیررس و گذرا انجام گیرد

# غربالگری هیپوتیروئیدیسم نوزادان

**مثبت کاذب تست غربالگری**

**شامل:**

**پره مچور بودن نوزاد/**

**استرس بالا نوزاد در حین زایمان /**

**کمبود مادرزادی تیروکسین بایندینگ گلوبین**

**محور اصلی خطاهای آزمایشگاهی**

**در حوزه تست‌های تیروئید**

**حال سؤال اصلی این است که در ارتباط با خطاهای فوق چه اقدام اصلاحی دائمی بایستی بنمائیم؟**

**جواب آن طراحی یک برنامه اجرایی ساده در حوزه تضمین کیفیت بخش هورمون و ایمونواسی**

**آزمایشگاه می باشد که ضمانت اجرایی آن اعتقاد مدیریت ارشد و کارکنان بخش هورمون به انجام این برنامه و نهایتاً نظارت مستمر بر انجام منظم این برنامه اثربخش بودن این برنامه را تضمین می نماید .**

# نوسانات بالینی در حوزه تست های تیروئید

**1- نوسان در میزان هورمون های موجود در گردش خون بواسطه نوسان پروتئین های حمل کننده ( گلوبولین اتصال یابنده تیروکسین / آلبومین / پره البومین و..)**

- The thyroid hormones circulate attached to plasma proteins. **About 70% of  $T_4$  is bound to thyroxine-binding globulin (TBG), 20% to transthyretin (formerly called binding prealbumin) and 10% to albumin.** While most of the circulating  $T_3$  is bound to TBG, it does so with a tenfold reduced affinity as compared with that of  $T_4$ .
- A small percentage of  $T_4$  and  $T_3$  remains unbound to protein, **with about 0.03% of  $T_4$  and 0.3% of  $T_3$**  arising by peripheral deiodination, with the liver and kidney having an important role in this transformation.
- As with other hormones, it is the free component that is metabolically active.

# T4 : Thyroxine

## TBG :Thyroxine Binding Globin

هورمون تیروکسین به همراه تری یدو تیرونین از فولیکول های غده تیروئید به داخل خون ترشح میگردد و قبل از ورود هورمون به سلول ملکول تیروکسین بایستی به فرم فعال و آزاد تری یدو تیرونین تبدیل گردد و نهایتا منجر به افزایش سطح متابولیک و مصرف اکسیژن در سلول و نهایتا تولید گرما می گردد

پیش ساز اصلی هورمون های تیروئید تیرو گلوبین است که در ادغام با ترکیبات ید منجر به تولید هورمون می گردد

### TBG :Thyroxine Binding Globin

قسمت عمده هورمون های تیروئید در خون باند به پروتئین تیروکسین بایندینگ گلوبولین می باشد و قسمتی به فرم آزاد و فعال متابولیک می باشد

**اندازه گیری تیروکسین بایندینگ گلوبولین در بیمارانی که شرایط بالینی آنها با نتایج پانل تیروئید هم خوانی ندارد مفید و کاربردی می باشد.**

هر عامل افزایش دهنده پروتئین پلاسما از جمله بارداری یا مصرف قرص ضد بارداری باعث افزایش کاذب هورمون تیروکسین و تری یدو تیرونین ( به میزان کمتر ) می گردد و بالعکس کاهش تیروکسین بایندینگ گلوبین در بیماری های کبدی و نفروز و مصرف دارو های استروئیدی آنابولیک منجر به کاهش کاذب تیروکسین می گردد لذا اندازه گیری سطح هورمون های آزاد تیروئید در ارزیابی دقیق هورمون های تیروئید بسیار مفید و کمک کننده است .

# نوسانات بالینی در حوزه تست های تیروئید

## 3- نتایج حد مرزی در هورمون محرک تیروئید ( حد بالا و یا حد پائین )

طراحی و توسعه حساسیت و ویژگی تست های ایمونواسی نسل سوم و چهارم اجازه تشخیص هیپرتیروئیدیسم و هیپوتیروئیدیسم تحت بالینی را فراهم نموده است . معمولا در این گروه بیماران تست هورمون محرک تیروئید در حد مرز بالا یا پائین می باشد و سایر تست ها در محدوده نرمال قرار دارد.

- The development of more sensitive assays permits the diagnosis of **subclinical hyper- and hypothyroidism**: these patients appear clinically euthyroid; however, their TSH values are respectively either suppressed or elevated



# نوسانات بالینی در حوزه تست های تیروئید

## 2- نوسانات بالینی تست های تیروئید ناشی از بیماری های غیر تیروئیدی :

در این گروه از بیماری ها غیر تیروئیدی بدون اینکه غده تیروئید درگیر بیماری های غیر تیروئیدی در میزان هورمون های تیروئید باشد بواسطه نوسان حاصل می گردد و پزشک را در تفسیر تست های بالینی دچار

در دسر می نماید که شامل مصرف برخی دارو ها و بیماران بستری تحت درمان با داروهای اعصاب و بیماری های ویرال و غیره می باشد. توصیه می گردد پانل تست های تیروئید پس از بهبود بیمار یا قطع مصرف دارو تکرار و بررسی مجدد گردد تا به تفسیر درستی از نتایج برسیم.

- A number of clinical situations can lead to difficulties in the interpretation of thyroid function tests: the presence of abnormal protein-binding proteins (either congenital or drug induced), alterations in thyroid hormone metabolism as seen in those hospitalized with acute psychiatric illness, or those on medications that either affect thyroid hormone binding or the HPT axis directly. The most important and most common problem with thyroid function tests probably occurs in those patients with various illnesses that do not directly involve the thyroid, so-called nonthyroidal illness.

# NTI (Nonthyroidal illness)

## بیماری های غیر تیروئیدی

در بیماران غیر تیروئیدی در سیر حاد بیماری هورمون محرک تیروئید کاهش یافته و با بهبود بیماری زمینه ای تست هورمون محرک تیروئید افزایش می یابد و پس از بهبودی کامل به سطح نرمال می رسد و به عبارتی در بیماری های غیر تیروئیدی نتایج تست های پائل تیروئید نوسان دارد

به عنوان مثال در زمان تجویز هورمون گلوکاکون و دوپامین سطح هورمون محرک تیروئید مهار می گردد و با قطع مصرف دارو نرمال می گردد .

در بیماران حاد نظیر انفارکتوس میوکارد یا بیماری عفونی حاد هورمون های تیروئیدی به همراه هورمون محرک تیروئید کاهش یافته و همراه با بهبودی سطح هورمون محرک تیروئید افزایش یافته و به سطح نرمال می رسد لذا اندازه گیری پائل تیروئید به زمان پس از بهبودی کامل توصیه می گردد به عنوان مثال در یک بیمار هیپر تیروئید مبتلا به بیماری عفونی یا التهابی حاد سطح تیروکسین و تری یدو تیرونین نرمال می شود .

# Euthyroid Sick Syndrome

- **In Euthyroid Sick Syndrome (ESS) the hypothalamic-pituitary-thyroid axis is affected by a nonthyroid illness.** The syndrome is acute, reversible, and occurs commonly after surgery, during fasting and in many acute febrile illnesses, and after acute myocardial infarction. Malnutrition, renal and cardiac failure, hepatic diseases, uncontrolled diabetes, cerebrovascular diseases, and malignancy can also produce abnormalities in thyroid function tests.<sup>4</sup> These changes may be observed in up to 75% of hospitalized patients.<sup>25</sup>
- Almost any condition that can make a person ill can cause ESS, and the elderly are more susceptible because of multiple co-morbid conditions. Any abnormality in hormone level is possible, although usually fT3 and fT4 are low and TSH could be low or normal. As patients recover from their illness, TSH may normalize or become elevated.
- **Ideally, thyroid function tests should not be performed during non-thyroid illness, but this may not be practically applicable, so any abnormal results should be interpreted with caution and with a realization that ESS is the most likely explanation for the finding rather than true thyroid disease.** TSH levels must be interpreted with caution in hospitalized individuals unless values are below 0.1 or above 20 mU/L.<sup>2</sup> Thyroxine replacement has not been beneficial and should not be used in patients with ESS.<sup>4</sup>

## نوسانات بالینی در حوزه تست های تیروئید

### 4- اشتراک زنجیره آلفا هورمون گلیکوپروتئینی محرک تیروئید با بتا ساب یونیت و گنادوتروپین ها

- TSH is a glycoprotein consisting of two monocovalently linked alpha and beta subunits.
- The alpha-subunit has the same amino acid sequences as luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormones (FSH) and human chorionic gonadotropin (HCG).
- It is the beta-subunit that carries the specific information to the binding receptors for expression of hormonal activities.

# Quality control of thyroid function tests in vitro

A. M. BOLD AND D. M. BROWNING

From the Clinical Chemistry Department, Queen Elizabeth Hospital, Birmingham

In our own laboratory we have tried **daily means**, but in practice have to rely on **analysis of a pooled serum, on commercial control sera, and on repeats of specimens from the previous run.**

These test reproducibility reasonably well, but are not satisfactory for accuracy. Our experience of control sera, especially for thyroxine and serum uptake tests, is that the values quoted are generally standardized by methods different from those we use.

# Preanalytical variation TSH

**Secretion of TSH occurs in a circadian fashion:**

**highest concentrations prevail at night between 0200 and 0400 hours, and lowest concentrations occur between 1700 and 1800 hours.**

Low-amplitude oscillations also occur throughout the day.

**The nocturnal increase in TSH is lost in critical illness and after surgery.**

**TSH surges immediately after birth, peaking at 30 minutes at 25 to 160 mIU/L; values decline back to cord blood concentrations by 3 days and reach adult values in the first weeks of life.**

There are no significant sex or race differences.

<b>Reference range TSH</b>	<b>mIU/L</b>
<b>Prematures, 28-36 wk (1st week of life)</b>	<b>0.7-27.0</b>
<b>Cord blood (&gt;37 wk)</b>	<b>2.3-13.2</b>
<b>Birth to 4 days</b>	<b>1.0-39.0</b>
<b>2-20 wk</b>	<b>1.7-9.1</b>
<b>21 wk-20 yr</b>	<b>0.7-64.0</b>
<b>Adults 21-54 yr</b>	<b>0.4-4.2</b>
<b>Adults 55-87 yr</b>	<b>0.5-8.9</b>
<b>Pregnancy First trimester</b>	<b>0.3-4.5</b>
<b>Pregnancy Second trimester</b>	<b>0.5-4.6</b>
<b>Pregnancy Third trimester</b>	<b>0.8-5.2</b>

## **1- storage T4**

T4 in serum is quite stable; storage of serum specimens at room temperature up to 7 days shows no appreciable loss of T4. However, serum specimens are best stored at 2 °C to 8 °C if they will not be tested within 24 hours. If longer periods of storage are necessary, freezing the specimens is recommended. Frozen specimens are stable for at least 30 days. Repeated freezing and thawing of the specimens should be avoided.

**2- Hemolysis and lipemia** have no significant effect on most T4 immunoassays;

however, grossly hemolyzed specimens should be avoided, because hemolysis may dilute the sample and cause a false decrease in the T4 concentration. Turbid samples should be centrifuged before testing.

Immunoassay procedures are not affected by organic dyes and inorganic iodine compounds. However, radioactive materials can interfere with RIA methods.

**3-Patients undergoing therapy** for a thyroid disorder should stop treatment 1 month before sampling if a true baseline is to be established.

**4-T4 autoantibodies** interfere with some immunoassays for T4 in that they can produce artificially low or high results, depending on the method.

**Specimens have been obtained from infants by heel puncture**; such specimens also are collected in capillary tubes or on filter paper. Dried blood specimens are stable and easily transported and are ordinarily obtained for purposes of screening neonates for congenital hypothyroidism. When this collection technique is used, a one-eighth-inch dot is punched out from the blood-saturated paper and is extracted into the buffer before performing the T4 assay. It is best to avoid touching the filter paper or exposing it to extreme heat or light.



<b>Reference range T4</b>	<b>Micro g/dL</b>	<b>nmol/L</b>
<b>Cord</b>	<b>7.4-13.0</b>	<b>95-168</b>
<b>Children 1-3 days</b>	<b>11.8-22.6</b>	<b>152-292</b>
<b>Children 1-2 wk</b>	<b>9.8-16.6</b>	<b>126-214</b>
<b>Children 1-4 mo</b>	<b>7.2-14.4</b>	<b>93-186</b>
<b>Children 4-12 mo</b>	<b>7.8-16.5</b>	<b>101-213</b>
<b>Children 1-5 yr</b>	<b>7.3-15.0</b>	<b>94-194</b>
<b>Children 5-10 yr</b>	<b>6.4-13.3</b>	<b>83-172</b>
<b>Children 10-15 yr</b>	<b>5.6-11.7</b>	<b>72-151</b>
<b>Adults (15-60 yr) Males</b>	<b>4.6-10.5</b>	<b>59-135</b>
<b>Adults (15-60 yr) Females</b>	<b>5.5-11.0</b>	<b>65-138</b>
<b>Adults &gt;60 yr</b>	<b>5.0-10.7</b>	<b>65-138</b>
<b>Newborn screen (whole blood) 1-5 days</b>	<b>&gt;7.5</b>	<b>&gt;97</b>
<b>Newborn screen (whole blood) 6 days</b>	<b>&gt;6.5</b>	<b>&gt;84</b>

# Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)

هورمون محرک تیروئید مهمترین تست تشخیصی عملکرد تیروئید است به خصوص با بهبود روش های تشخیصی و افزایش حساسیت روش ها .

بیماران هیپر تیروئید هورمون محرک تیروئید مهار شده یا ساپرس دارند ( به جز بیماران هیپر تیروئیدیسم ثانویه که به علت تومور مولد هورمون محرک تیروئید در هیپوفیز قدامی و.. که حاوی سطح بالای هورمون محرک تیروئید می باشند )

در هیپرتیروئیدیسم تحت بالینی هورمون محرک تیروئید کاهش یافته در حالی که سطح هورمون های تیروئیدی نرمال است و مشابه این حالت در شرایط معکوس در هیپو تیروئیدیسم تحت بالینی دیده میشود

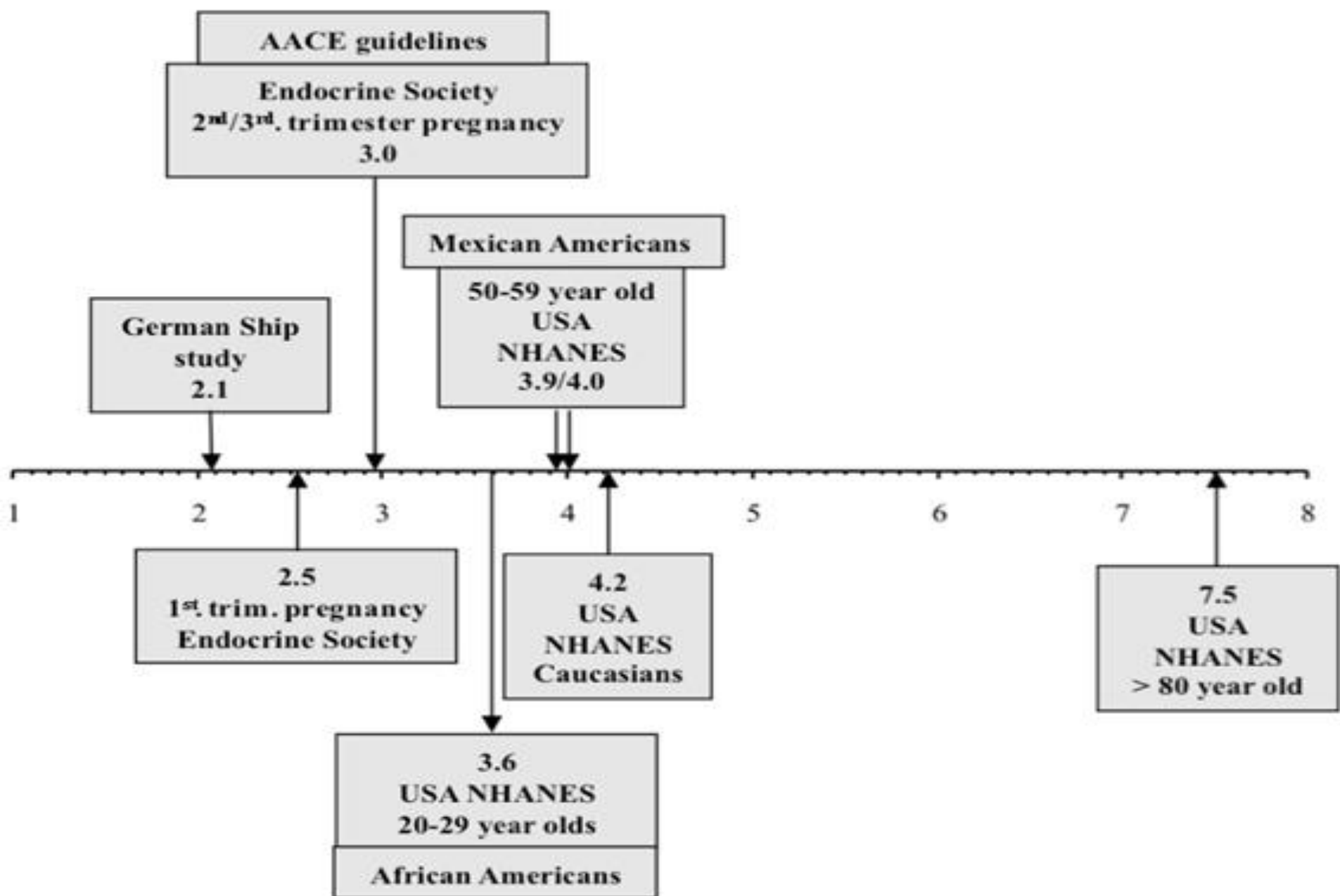
# Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)

علیرغم اینکه تست هورمون محرک تیروئید تست انتخابی و مناسب برای شناسائی اختلالات عملکرد تیروئید است لازم است که سطح هورمون باند و آزاد تیروکسین نیز در کنار آن اندازه گیری و ارزیابی گردد خصوصا به این دلیل که در مواردی در افراد یو تیروئید در برخی مقاطع زمانی و در شرایط ابتلا به بیماری های ویرال یا عفونی حاد سطح هورمون محرک تیروئید بالا یا پائین می باشد

اندازه گیری تری یدو تیرونین همراه هورمون محرک تیروئید صرفا در تشخیص انواع هیپر تیروئیدی مناسب است

انتهی بادی های هتروفیل نیز منجر به افزایش کاذب هورمون محرک تیروئید می شوند

**Figure 3. Reported differences in the TSH upper (97.5%) reference limit**



# TSH Biologic Variability

- The within-person variability of basal TSH concentrations is relatively narrow compared with between-person variability.
- In fact, the serum TSH concentrations of euthyroid volunteers was found to vary only 0.5 mIU/L when tested every month over a span of one year . Twin studies further suggest that there are genetic factors that determine hypothalamic-pituitary-thyroid setpoints (244). These studies report that the inheritable contribution to the serum TSH level approximates 65 percent (291,292). This genetic influence appears, in part, to involve single nucleotide polymorphisms in thyroid hormone pathway genes such as the phosphodiesterase gene (PDE8B) (293-295), the TSH receptor, where polymorphisms can be associated with gain or loss of function (293,296,297) and the type II deiodinase enzyme (298). Undoubtedly, such polymorphisms likely account for some of the euthyroid outliers that skew TSH reference range calculations (277,299). Serum TSH, as with other thyroid tests, has narrow within-person variability and thus a low ( $< 0.6$ ) index of individuality (IoI) (290,300-302). This limits the usefulness of using the population-based reference range to detect thyroid dysfunction in an individual patient (188,302,303). It further suggests that when evaluating patients with marginally (yet confirmed) either low ( $0.1\frac{1}{2}$ ;0.4 mIU/L) or high ( $3\frac{1}{2}$ ;10 mIU/L) TSH abnormalities, it may be more important to consider the degree of TSH abnormality relative to patient-specific risk factors for cardiovascular disease rather than the degree of the abnormality relative to the TSH reference range

# Clinical Utility of TSH Measurement

- ***(i) Ambulatory Patients***
- Serum TSH normally exhibits a diurnal variation with a peak between midnight and 0400.
- However, because TSH testing is most commonly performed in the outpatient setting during normal daytime working hours, it is not usually influenced by the time of day of the blood draw (305).
- **Furthermore, there is no need to withhold the levothyroxine (L-T4) dose on the day of the blood draw, because TSH secretion is slow to respond to changes in thyroxine status (6).**
- The TSH concentration is used as the target for adjusting L-T4 medication within a very narrow therapeutic index (306). It is well known that L-T4 absorption is highly variable and influenced by the simultaneous ingestion of food. To address this issue a recent study reported that TSH remained within the narrowest target range when the daily L-T4 dose was ingested in a fasting state, preferably before breakfast after an overnight fast

# Interferences with Thyroid Test Methodologies

- It is difficult for the laboratory to proactively detect interference from a single measurement such as an isolated TSH test. It is more common for the physician to suspect assay interference when a reported value is inconsistent with the clinical status of the patient (571). In this context, it is important to note that classic laboratory checks of analyte identity, such as dilution, may not always detect an interference problem. The most practical way to investigate a possible interference is to test the specimen by a different manufacturer method and check for discordance between the test results. This approach is effective because methods vary in their susceptibility to interfering substances. Occasionally, a biological check can be made using TRH-stimulation or thyroid hormone suppression to validate a suspect TSH, or rhTSH stimulation to check a suspect Tg.
- Interferences producing a falsely elevated TSH or Tg values will usually be associated with a blunted (<2-fold increase) to stimulation responses, or in the case of TSH less than the expected 90 percent suppression 48 hours following the oral administration of 1mg of L-T4 or 200µg L-T3 (207).
- There are four classes of assay interference: (a) crossreactivity problems, (b) endogenous antibodies to the analyte, (c) heterophilic (animal) antibody interference with assay reagents and (d) in vivo or in vitro drug interactions (574)

# Cross-reactivity Problems

- The specificity of an immunoassay depends on the ability of the antibody reagent to discriminate flawlessly between the analyte and structurally related ligands (575).
- TSH assays are more likely to be affected by such cross-reactivity problems than thyroid hormone tests where chemically pure iodothyronine preparations are available for selecting antibody specificity. However, **the use of monoclonal antibodies for developing TSH IMA methods has virtually eliminated the cross-reactivity problems with other glycoprotein hormones (LH or hCG) that plagued the early TSH RIA methods** (197).  
However, because each monoclonal antibody differs in its specificity for recognizing various circulating TSH isoforms, these antibody differences can result in the reporting of TSH values that may differ by as much as 1.0 mIU/L for the same serum specimen



# Endogenous Antibodies

- In 1956 Robbins and colleagues first reported an unusual thyroxine binding protein globulin in serum that proved to be the result of an autoantibody. Subsequently, both T4 and T3 as well as TSH autoantibodies have been identified in sera from patients with autoimmune thyroid and nonthyroid disorders [Section 3Ec]. Although there are numerous reports of anomalous total and free thyroid hormone as well as TSH test values resulting from T3, T4 or TSH autoantibodies, these autoantibodies now only rarely cause interference with current methods. When it does occur, such **endogenous antibody interferences are characterized by either falsely low or falsely high values, depending on the type and composition of the assay method employed . In contrast, the common occurrence of autoantibodies directed against thyroglobulin (TgAb) still cause major problems with serum Tg measurement,** as discussed in section 6A(v).

# Heterophile Antibodies (HAb)/ Human Anti-Mouse Antibodies (HAMA)

- HAb represents a group of relatively weak multispecific, polyreactive antibodies with specificity for poorly defined antigens that react with immunoglobulins derived from two or more species. Most frequently such HAb interferences result from IgM Rheumatoid Factor or Human Anti-Mouse Antibodies (HAMA) . **Immunometric assay (IMA) methods that use monoclonal antibodies of murine origin are more prone to HAMA interference than competitive immunoassays because HAMA in the specimen is able to form a bridge between the capture and signal antibody reagents and creates a false signal that is reported as a falsely high value.** Possibly most worrisome are those instances when such HAMA interference produces inappropriately normal values in patients that eventually prove to have clinical disease (590,591). Even the use of chimeric antibodies does not appear to overcome this form of antibody interference (592). Although in most cases interference is detected as a false positive result, **false negative interferences have been reported for Troponin 1 and Thyroglobulin.** Failure to recognize such interferences can result in unnecessary additional testing or even unnecessary surgeries. Since antibodies cross the placenta, these HAb's have the potential to interfere with the diagnostic accuracy of neonatal screening tests (596). **Although the prevalence of interfering antibodies can be as high as 30-50 percent, manufacturers typically develop their assays to include reagents that block or neutralize most interferences** . The prevalence of such interference is difficult to estimate employing present methodologies but is currently estimated to range between 0.03 and 3.0 percent (457,598). Despite the measures used by manufacturers to neutralize interferences due to HAMA, this type of interference continues to be infrequently encountered in clinical practice, **especially when patients have been exposed to animal proteins through vocational, diagnostic or therapeutic routes.** Because the potential for interference is unique to a particular patient specimen, such interference will not be identified by the laboratory routine quality assurance checks. Thus both the clinician and the laboratory must be aware of this possibility when an apparently inappropriate test result is encountered. Although assays for HAMA detection have been developed, inter-method differences are so large that these tests are currently not considered to be reliable enough for interference screening

# Drug Interferences:

- Drug interferences may cause in-vitro or in-vivo effects on thyroid tests and/or thyroid function . In-vitro effects result when the specimen contains a sufficient concentration of certain therapeutic and diagnostic agents to produce methodologic interference . Drugs can also have in vivo effects on thyroid function by altering TSH, thyroid hormone secretion and/or thyroid hormone metabolism .
- ***(i) Drugs that Affect Thyroid Tests in Euthyroid Patients***
- **TSH Suppression of serum TSH concentrations can directly result from Glucocorticoid therapies (prednisone  $\geq$  20mg qd; hydrocortisone 100 mg qd or dexamethasone  $\geq$  0.5 mg qd), whereas high dose Salicylate or Furosemide (3-30  $\geq$  80 mg iv) therapies can cause TSH suppression by displacing of T4 from TBG .**
- **Octreotide ( $\geq$ 100 qd) and Dopamine cause suppression of TSH secretion as a consequence of binding to their respective receptors on thyrotropes. In fact, in hospitalized patients TSH elevations resulting from hypothyroidism can be masked by Dopamine infusions for the treatment of hypotension .**
- **Conversely, increased TSH can be associated with Dopamine antagonists, Amphetamine, IL-2 or Theophylline treatments**

# Thyroid Function during Pregnancy

- During pregnancy, normal thyroid activity undergoes significant changes, including a **two- to threefold increase in thyroxine-binding globulin concentrations, a 30–100% increase in total triiodothyronine and thyroxine concentrations, increased serum thyroglobulin**, and increased renal iodide clearance. Furthermore, **hCG has mild thyroid stimulating activity.**
- Pregnancy produces an overall increase in thyroid activity, which allows the healthy individual to remain in a net euthyroid state. However, both hyper- and hypothyroidism can occur in pregnant patients

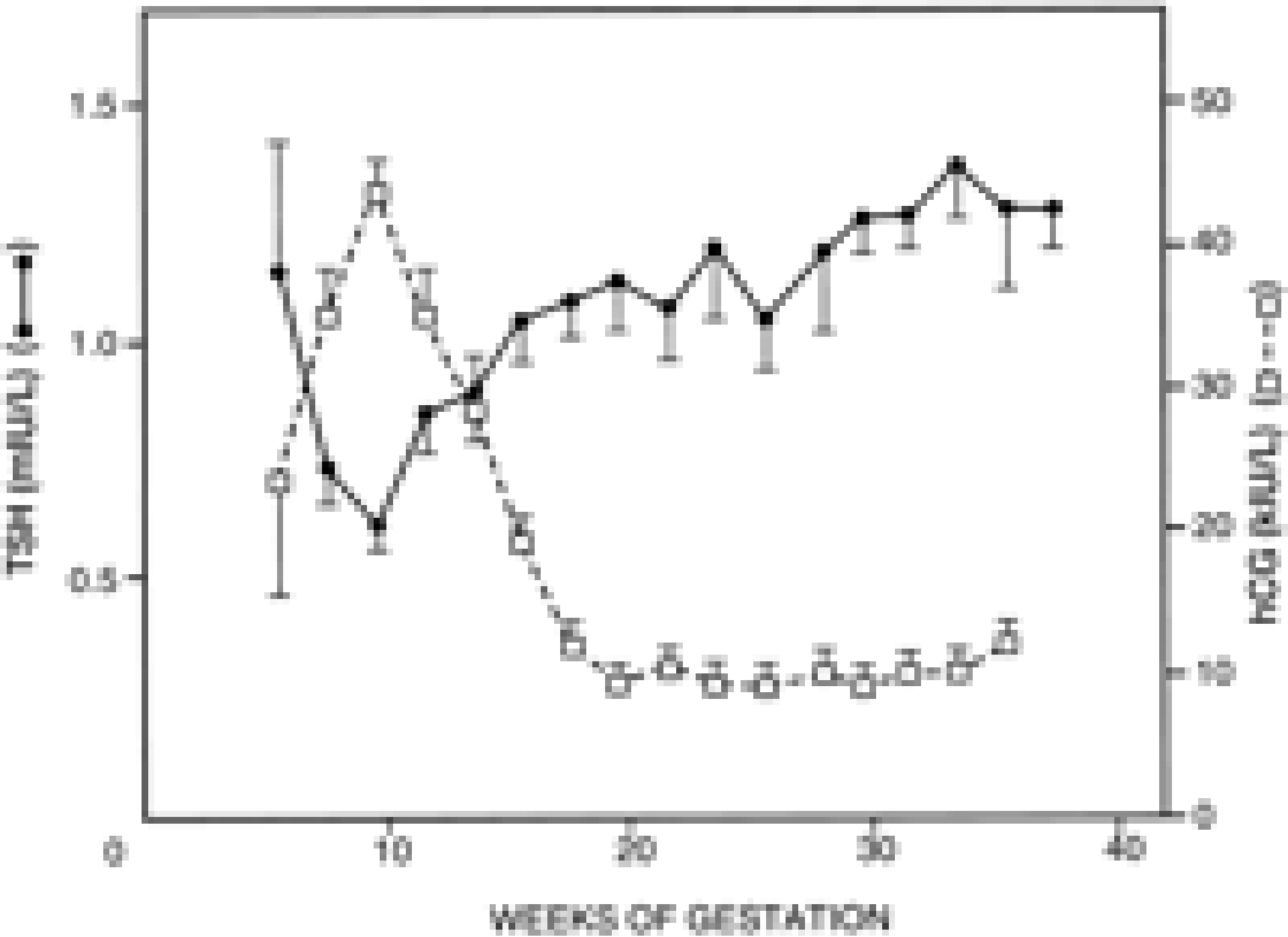
# Thyroid Function during Pregnancy

- *Conclusion:*
- **Assessment of thyroid function during pregnancy should be done with a careful clinical evaluation of the patient's symptoms as well as measurement of TSH and free, not total, thyroid hormones.**

Measurement of thyroid autoantibodies may also be useful in selected cases to detect maternal Graves disease or Hashimoto thyroiditis and to assess risk of fetal or neonatal consequences of maternal thyroid dysfunction.

# Thyroid stimulation by hCG.

- **hCG has mild thyrotropic activity.**
- **During the first trimester of pregnancy, when hCG is at its greatest concentration, serum TSH concentrations drop,** creating the inverse image of hCG (Fig. 2\_ ).
- In most pregnancies, this decrease in TSH remains within the health-related reference interval ([16](#)). Under pathological conditions in which hCG concentrations are markedly increased for extended periods, significant hCG-induced thyroid stimulation can occur, decreasing TSH and increasing free hormone concentrations



# hyperthyroidism during pregnancy

- **The incidence of hyperthyroidism in pregnant women has been estimated at 0.2%.**
- Most women have symptoms before pregnancy, but some will demonstrate symptoms for the first time during pregnancy.
- **Causes of hyperthyroidism during pregnancy are listed in Table 2\_\_ . The most common cause is Graves disease, which accounts for 85–90% of all cases .**
- Diagnosis of hyperthyroidism during pregnancy is important because untreated or poorly treated hyperthyroidism can lead to adverse obstetrical outcomes. These include first-trimester spontaneous abortions, high rates of still births and neonatal deaths, two- to threefold increases in the frequency of low birth weight infants, preterm delivery, fetal or neonatal hyperthyroidism, and intrauterine growth retardation.



# Diagnosis of hyperthyroidism during pregnancy

- Evaluation should not include total  $T_4$  or  $T_3$  because these will be increased in healthy pregnant women, and should instead include an assessment of free hormone values either directly or via a calculated index (Fig. 3\_ ).
  - Routine laboratory tests in hyperthyroid patients may show mild leukopenia, hypercalcemia (<10% of patients), increased alkaline phosphatase, and occasional mild increases in other liver enzymes
- Thyroid autoantibodies:**
- Thyroid anti-microsomal antibodies (also known as thyroid peroxidase antibodies or TPO antibodies) are increased in most (80–90%) patients with Graves disease, and thyroid hormone receptor antibodies (TRAbs) are increased in 80% or more of patients

## T4 : Thyroxine

ترکیب هورمون تیروکسین پائین و هورمون محرک تیروئید بالا نشانه هیپو تیروئیدیسم اولیه است

ترکیب تیروکسین و تری یدو تیرونین بالا همراه با هورمون محرک تیروئید ساپرس و پائین نشانه هیپرتیروئیدیسم اولیه است

T4 تیروتوکسیکوز حالتی است که تیروکسین بالا و تری یدو

تیرونین نرمال است ( همراه با هورمون محرک تیروئید ساپرس )

T3 تیرو توکسیکوزیس حالتی است که تری یدو تیرونین بالا

و تیروکسین نرمال است همراه با هورمون محرک ساپرس

T4 بالا در افراد یو تیروئید تحت عنوان هیپر تیروکسینمی یو تیروئید

میباشد و علت ان شامل افزایش تیروکسین بایندینگ گلوبین و سایر

پروتئین های اتصالی است

# FT4 : Free Thyroxine

تیروکسین آزاد به وسیله ایمونو اسی تعیین می گردد یا از طریق محاسبه اندکس تیروکسین آزاد تخمین زده می شود

تیروکسین آزاد شرایط بالینی بیمار را بهتر منعکس نموده و در شرایط تغییر غلظت پروتئین های اتصالی دچار نوسان کاذب نمی گردد لذا در بیماران هیپر تیروئید افزایش و در هیپوتیروئید کاهش می یابد .

مصرف طولانی مدت برخی داروها کاهش کاذب در تیروکسین توتال و آزاد (30-15%) به طور همزمان حاصل می نماید از جمله فنی توئین یا کاربامازپین .

## Reverse T3

### تری یدو تیرونین معکوس

تری یدو تیرونین معکوس متابولیت اصلی تیروکسین می باشد که بواسطه دیدیناسیون تیروکسین در خون محیطی حاصل می شود

اندازه گیری تری یدو تیرونین به لحاظ بالینی اهمیت کمی دارد

غلظت تری یدو تیرونین معکوس در بیماری های غیر تیروئیدی افزایش نشان می دهد ( برخلاف تری یدو تیرونین که کاهش دارد )

# تیروگلوبولین Thyroglobin ( TG )

غلظت سرمی نرمال تیرو گلوبولین حدود 30 نانوگرم در سی سی می باشد

## کاربرد اندازه گیری تیرو گلوبولین :

1- کنترل سیر بیماری های بدخیم تیروئید و تعیین پاسخ به درمان

2- تشخیص کارسینوم های تیروئید از نوع خوب تمایز یافته ( قابل ذکر است تست تیرو گلوبین جهت تشخیص کارسینوم اندیفرانسیه یا خوب تمایز نیافته و کارسینوم مدولاری تیروئید مناسب نمی باشد)

3- تیرو گلوبین در گریوز و تیروئیدیت و گواتر افزایش می یابد

**نکته:** به دلیل حضور انتی بادی ضد تیرو گلوبین در 20% بیماران کانسر تیروئید کاربرد تست تیرو گلوبین محدود گردیده است .

# آنتی بادی ضد رسپتور هورمون محرک تیروئید

## Anti-TSH Receptor

اتوانتی بادی ضد رسپتور هورمون محرک تیروئید از دو نوع است :

### 1- بلوک کننده 2- تحریک کننده

در بیماری گریوز اتوانتی بادی ضد رسپتور از نوع تحریک کننده و آگونیست می باشد که نهایتاً به ترشح بیش از حد هورمون های تیروئیدی از غده تیروئید منجر می گردد .

در بیماری گریوز ندرتاً اتوانتی بادی ضد رسپتور با خاصیت بلوکان نیز وجود دارد که معمولاً هیچ علامتی بوجود نمی آورد

### کاربرد اندازه گیری اتوانتی بادی ضد رسپتور :

1- تشخیص پیش آگهی بیمار گریوز و تشخیص افتراقی آن

2- پیش بینی خطر اختلال عملکرد تیروئید در نوزادان (با مادر

مبتلا به گریوز)