

Problemas de la determinación de tiroglobulina

J. RODRÍGUEZ-ESPINOSA

Servei de Bioquímica Clínica. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

La medida de la concentración de tiroglobulina en el suero es útil en el diagnóstico y seguimiento de diversas anomalías tiroideas, sobre todo como marcador tumoral en el cáncer diferenciado de tiroides. Sin embargo, a pesar del espectacular desarrollo experimentado por el inmunoanálisis de dicha magnitud en los últimos 30 años, todavía existen serios problemas, tanto dependientes como independientes del método, que hacen de esta determinación uno de los mayores desafíos para el laboratorio clínico, principalmente cuando se trata de usarla para identificar pacientes con residuo o recidiva tumoral. En esta revisión se destacan y analizan los principales factores que dificultan la medida de dicha magnitud y se describen los procedimientos y medios disponibles para soslayarlos o, al menos, minimizarlos.

THE CHALLENGE OF THYROGLOBULIN RESISTANCE

Serum thyroglobulin measurement is useful in the diagnosis and follow-up of several thyroid anomalies and is especially useful as a tumoral marker in differentiated thyroid cancer. However, despite the spectacular advances achieved by immunoanalysis in the last 30 years, serious problems, both dependent and independent of the method, still remain. These obstacles make serum thyroglobulin measurement one of the main challenges for the clinical laboratory, principally when these determinations are used to identify patients with residual tumor or tumoral recurrence. The present review analyzes the main factors that hinder serum thyroglobulin measurement and describes the procedures and resources available to overcome, or at least minimize, these obstacles.

Key words: Thyroglobulin. Immunoanalysis. Differentiated thyroid cancer. Antithyroglobulin autoantibodies.

INTRODUCCIÓN

La tiroglobulina es una glucoproteína de unos 660 kD de masa molecular, compuesta por 2 subunidades idénticas, cada una con un coeficiente de sedimentación de 12 S y unidas entre sí por enlaces no covalentes; un 10% de su composición son hidratos de carbono¹. En el organismo humano la síntesis y localización de la tiroglobulina se circunscriben casi exclusivamente al folículo tiroideo, en cuya cavidad se organiza como componente principal del material proteico conocido como coloide, rico en residuos tiro-silos, cuya yodación y acoplamiento, bajo la acción de la tirotrópina (TSH), conducen a la síntesis de hormonas tiroideas.

El gen de la tiroglobulina humana se halla localizado en el cromosoma 8, ocupa un *locus* de más de 300 kb y contiene 42 exones. La TSH regula su transcripción usando la vía del adenosinmonofosfato cíclico, aunque también puede actuar regulando mecanismos de traslación².

En condiciones fisiológicas, y bajo el estímulo de la TSH, la tiroglobulina puede segregarse al torrente sanguíneo y detectarse en el suero de la mayoría de los individuos sanos si se usan métodos de medida con suficiente capacidad de detección³. Una vez en la circulación, la tiroglobulina se degrada principalmente en el hígado y se

Palabras clave: Tiroglobulina. Inmunoanálisis. Cáncer diferenciado de tiroides. Autoanticuerpos antitiroglobulina.

Correspondencia: Dr. J. Rodríguez-Espinosa.
 Servei de Bioquímica Clínica. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
 Sant Antoni M.ª Claret, 167. 08025 Barcelona. España.
 Correo electrónico: jrodries@santpau.es

Manuscrito recibido el 28-1-2004; aceptado para su publicación el 2-2-2004.

TABLA 1. Concentraciones de tiroglobulina en individuos con y sin enfermedades tiroideas

Enfermedad	Concentración (g/l)
Sin enfermedad tiroidea	5,1 ± 0,5
Cáncer medular	4,9 ± 0,6
Enfermedad de Graves eutiroidea	6,8 ± 1,2
Posparto	10,2 ± 1,3
Cáncer diferenciado	103,2 ± 125,6
Tiroiditis subaguda	136,8 ± 74,5
Hipertiroidismo (no Graves)	145,0 ± 27,0
Hipertiroidismo (Graves)	176,0 ± 30,0
Bocio endémico	208,2 ± 19,8
Bocio nodular no tóxico	453,0 ± 460,0*
Cáncer diferenciado metastásico	464,9 ± 155,6
Adenoma no tóxico	464,9 ± 189,4

Los datos se indican como media ± error estándar o *desviación estándar. Adaptada de Van Herle AJ. Measurement and clinical significance of thyroglobulin in serum and body fluids. En: Ingbar SH, Braverman LE, editors. Werner's the thyroid a fundamental and clinical text, 5th ed. Philadelphia: Lippincott, 1986; p. 537.

mantiene en el plasma con una semivida de 3 a 65 h, dependiendo del grado de modificación postraslacional y de las condiciones del individuo. La tiroglobulina presente en el suero suele ser heterogénea debido al *splicing* del ARNm, de tal modo que pueden apreciarse diferencias no sólo entre individuos, sino también entre las formas presentes en el suero y las del tejido tiroideo⁴.

En la molécula de tiroglobulina se han identificado unos 40 epítomos diferentes, de los cuales sólo unos pocos reaccionan con la mayoría de los autoanticuerpos que aparecen de forma natural. Éstos suelen ser inmunoglobulinas de la clase G, aunque también pueden pertenecer a las clases M y A, todas capaces de reconocer distintos patrones conformacionales de epítomos característicos de determinadas alteraciones tiroideas⁵. Además, modificaciones en la glucosilación y yodación de la tiroglobulina pueden inducir a su vez cambios conformacionales de la molécula capaces de ocultar o poner al descubierto epítomos diferentes. El conocimiento de la existencia de múltiples epítomos en la molécula de la tiroglobulina será clave para explicarnos gran parte de los problemas que surgen en el laboratorio clínico al intentar medir su concentración en el suero mediante procedimientos inmunoquímicos.

USO CLÍNICO DE LA DETERMINACIÓN DE TIROGLOBULINA

La concentración de tiroglobulina en el suero depende de diversos factores, entre los que destacan, principalmente, la cantidad de tejido tiroideo diferenciado, la inflamación o lesión del tejido tiroideo y la estimulación del receptor de TSH (por TSH, coriogonadotropina o autoanticuerpos estimulantes del tiroideo). Como puede deducirse de los datos expuestos en la tabla 1, el hallazgo de una concentración elevada de tiroglobulina en el suero no indica la presencia de una disfunción tiroidea específica, y la mayoría de los pacientes con concentraciones elevadas tiene alteraciones tiroideas benignas⁵.

TABLA 2. Factores que influyen en la fiabilidad y reproducibilidad de la medida de las concentraciones de tiroglobulina en el suero

Independientes del método	Dependientes del método
Anticuerpos heterófilos	No usar material de referencia
Gammapatías monoclonales	Anticuerpos de diferente especificidad
Estadio final de insuficiencia renal	Imprecisión analítica
Autoanticuerpos antitiroglobulina	Insuficiente detectabilidad
"Efecto gancho"	"Efecto matriz"
	Isoforma no reconocida por el anticuerpo

Adaptada de Spencer et al⁸.

La medida de la concentración de tiroglobulina en el suero es útil en el diagnóstico de defectos congénitos de su síntesis o del desarrollo de la glándula tiroidea, en el diagnóstico de la tirotoxicosis facticia y, sobre todo, como marcador tumoral en el cáncer diferenciado de tiroidea (CDT). Este último uso es el de mayor importancia y el más extendido, de tal modo que en la actualidad constituye la herramienta básica, complementaria a la clínica, en el seguimiento de los pacientes portadores de CDT tratados mediante ablación de la glándula tiroidea⁶. No obstante, a pesar de este reconocimiento y de los 30 años transcurridos desde el desarrollo del primer inmunoanálisis de tiroglobulina clínicamente útil⁷, todavía existen problemas metodológicos que hacen de la medida de esta magnitud uno de los mayores desafíos para el laboratorio clínico a la hora de usarla para la detección de pacientes con residuo o recidiva tumoral de CDT^{6,8,9}. La fiabilidad de dicha medida será esencial, pues de ella dependerá no sólo la identificación de individuos enfermos en la fase más temprana posible, sino también la prevención de la realización de pruebas innecesarias en los que verdaderamente se han curado.

DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE TIROGLOBULINA

Los factores susceptibles de producir resultados espurios de tiroglobulina son tan variados y tan difíciles de controlar o neutralizar que en más de una ocasión se ha cuestionado la posibilidad de medirla con exactitud¹⁰⁻¹². Estas limitaciones se deben tanto a problemas inherentes a la muestra como al propio método analítico (inmunoanálisis) usado para medir su concentración (tabla 2): *a*) diseño y estandarización de los inmunoanálisis; *b*) reproducibilidad analítica a largo plazo; *c*) conmutabilidad de resultados entre laboratorios; *d*) detectabilidad a concentraciones bajas; *e*) no detección de isoformas de tiroglobulina inmunológicamente inactivas; *f*) interferencia por "efecto gancho" a concentraciones elevadas; *g*) interferencia por anticuerpos heterófilos, y *h*) interferencia por autoanti-

TABLA 3. Factores capaces de modificar las concentraciones de tiroglobulina en el suero

Aumento mediado por TSH	Aumento no mediado por TSH	Disminución mediada por TSH	Disminución por otras causas
Administración de TSH	Inmunoglobulinas (enfermedad de Graves)	Administración de hormona tiroidea	Defecto de síntesis
Administración de TRH	hCG	Tejido tiroideo insuficiente	Prematuridad
Posparto (1-96 h)	Punción tiroidea percutánea		
Déficit de yodo	Cirugía tiroidea o paratiroidea		
Bocio endémico	131I		
Bociógenos	Nódulos tiroideos autónomos		
Baja reserva tiroidea	Tiroiditis subaguda		
Resistencia a hormona tiroidea	Cáncer diferenciado de tiroides		
Inhibición por yoduros	Fallo renal		
Tumor productor de TSH			

TSH: tiotropina; TRH: hormona liberadora de TSH; hCG: gonadotropina coriónica humana. Adaptada de Torrens y Burch⁵.

cuerpos antitiroglobulina (ATg). Por consiguiente, el laboratorio clínico tendrá como objetivo controlar la influencia de todos estos factores sobre las concentraciones de dicha magnitud. Del mismo modo, el médico que solicite su medida con fines clínicos debería tener un conocimiento claro de cuáles han de ser los objetivos mínimos de calidad analítica con los que ha de cumplir el laboratorio responsable de esta determinación. La National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) de EE.UU. ha publicado recientemente una guía sobre inmunoanálisis de tiroglobulina, de utilidad práctica para laboratorios clínicos, fabricantes de reactivos y médicos clínicos, en la cual se contemplan las principales variables a controlar y los medios para lograrlo¹³. El laboratorio clínico, además, no sólo deberá producir sus propios valores de referencia, sino también establecer las condiciones en las cuales han de obtenerse, mantenerse y almacenarse las muestras destinadas al análisis bioquímico.

Condiciones premetrológicas y valores de referencia

El médico clínico que solicita al laboratorio la medida de la concentración de tiroglobulina en suero debería considerar todas las variables que pueden influir en la correcta interpretación de los resultados obtenidos (tabla 3)⁵. Entre éstas conviene destacar: *a*) la presencia de ATg y la concentración de TSH en el suero, cuyas mediciones deben acompañar a la de tiroglobulina; *b*) la lesión tiroidea (irradiación, cirugía, punción), por lo que la muestra para la determinación de tiroglobulina ha tomarse antes de que se produzca o de 4 a 6 semanas después –la semivida en sangre de la tiroglobulina es de unas 30 h (3-65 h)–; *c*) la estabilidad de la tiroglobulina, que en el suero es de 3 h a temperatura ambiente, de un día a 2-8 °C y de un año a -20 °C; *d*) los valores de referencia de tiroglobulina en pacientes con CDT tiroidectomizados e irradiados, que deberían ser de 0, bien sea bajo tratamiento supresor o bien bajo el estímulo de TSH (endógena o recombinante); *e*) el yodo de la dieta; *f*) la condición de fumador/a, y *g*) la presencia de disfunción tiroidea (hipo o hipertiroidismo) o de bocio.

Los valores de referencia de la tiroglobulina deberían producirse a partir de poblaciones de individuos seleccionados atendiendo a los criterios de exclusión siguientes^{5,13}: *a*) bocio; *b*) fumador/a; *c*) antecedentes familiares de enfermedad tiroidea; *d*) presencia en el suero de ATg o autoanticuerpos antitiroperoxidasa medidos por inmunoanálisis, y *e*) concentración de TSH en el suero inferior a 0,5 mUI/l o mayor de 2,0 mUI/l. Cada laboratorio debería determinar sus propios intervalos de referencia para dicha magnitud, pues ésta guarda una estrecha dependencia de la disponibilidad de yodo en la dieta, la cual varía geográficamente.

Diseño y estandarización de inmunoanálisis

Tradicionalmente, la concentración de tiroglobulina en el suero se ha medido por radioinmunoanálisis basados en la técnica descrita en 1973 por Van Herle et al⁷. En general, se trata de inmunoanálisis competitivos de doble anticuerpo e incubación secuencial que usan ¹²⁵I como trazador (radioinmunoanálisis, RIA). En esta técnica se realiza una primera incubación del suero con el anticuerpo específico obtenido frente a la tiroglobulina y, a continuación, después de un período de incubación más o menos largo, se añade la tiroglobulina marcada con ¹²⁵I, que competirá con la endógena por los sitios de unión del anticuerpo; por último, se añade un segundo anticuerpo dirigido contra el primero, lo cual hace que precipite la tiroglobulina unida a este último y quede la fracción libre de ésta en el sobrenadante, con lo que se logra la separación de ambas fracciones y se puede realizar la lectura de la radiactividad en la fracción unida.

En la actualidad, el uso de inmunoanálisis competitivos isotópicos de tiroglobulina en el laboratorio clínico ha sido desplazado casi por completo por los de tipo no competitivo (inmunométricos, IMA). En éstos no hay competición entre antígenos por un mismo anticuerpo, sino que usan al menos 2 anticuerpos dirigidos específicamente contra epítomos diferentes de la molécula de tiroglobulina, de tal modo que toda la que se halle en el suero quedará unida por 2 sitios distintos a ambos anticuerpos. Generalmente, uno de los anticuerpos se halla unido a una fase sólida (anticuerpo de

captura) y el otro a una molécula indicadora (anticuerpo de señal) que puede ser un isótopo radiactivo (inmuno-radiométrico, IRMA), una sustancia quimioluminiscente (inmunoquimioluminométrico), una enzima (enzimoinmuno-métrico), etc.

Los inmunoanálisis no competitivos ofrecen notables ventajas de orden práctico sobre los competitivos: períodos de incubación más breves, mayor intervalo de trabajo, mayor estabilidad del anticuerpo marcado, mayor facilidad de automatización, menor imprecisión y mayor detectabilidad (límite de detección más bajo).

Desde la introducción, desarrollo y comercialización de inmunoanálisis para la medida de tiroglobulina se han venido observando discrepancias entre los resultados producidos por diferentes métodos. En un estudio cooperativo internacional se observó que esta variabilidad entre métodos llegaba a ser de un 65% y se atribuyó principalmente a diferencias en la estandarización, debido a la falta de un material de referencia de uso común¹⁴. Posteriormente, bajo el patrocinio de la Oficina de Referencia de la Comunidad (BCR de la Comisión de las Comunidades Europeas), se realizó otro esfuerzo cooperativo que cristalizó en la producción de un patrón de tiroglobulina de origen glandular que se ha adoptado como estándar internacional (CRM-457)¹⁵. Con el uso de este material se ha logrado disminuir la variabilidad entre métodos (media del 28,8%)⁸, lo cual hace recomendable y deseable que todo inmunoanálisis de tiroglobulina sea estandarizado frente a dicho patrón. No obstante, es evidente que esta condición no ha sido suficiente para eliminar del todo la variabilidad entre métodos, pues ésta sigue siendo mayor que la imprecisión máxima necesaria para la monitorización de pacientes individuales con CDT⁸; es decir, en éstos el seguimiento a largo plazo no debería hacerse usando concentraciones de tiroglobulina producidas por diferentes inmunoanálisis.

Detectabilidad e imprecisión analíticas

En pacientes con cáncer de tiroides, los inmunoanálisis usados para la medida de tiroglobulina deberían poder detectar concentraciones muy bajas, pues la experiencia adquirida indica que incluso valores muy bajos podrían significar recurrencia del cáncer en pacientes atireóticos, aun cuando las concentraciones de TSH estén suprimidas^{6,8,9,13,16}.

El límite de detección bajo, o "sensibilidad funcional" de un inmunoanálisis, viene determinado por su imprecisión a concentraciones bajas. En la guía de la NACB se recomienda que dicho límite se determine usando los mismos criterios y procedimientos que se han propuesto para la TSH (concentración mínima con un coeficiente de variación del 20%, obtenida a partir del perfil de imprecisión interserial)¹³. De acuerdo con este criterio, algunos inmunoanálisis no son capaces de detectar concentraciones próximas al límite inferior (1-3 g/l) de los valores de referencia en individuos sanos. Otros ni siquiera llegan a detectar las concentraciones

de tiroglobulina que habitualmente se hallan presentes en sueros procedentes de individuos sanos, lo cual los invalida para su uso en la monitorización de recurrencias de CDT. Sin embargo, hoy día es posible medir concentraciones de tiroglobulina inferiores a 1 g/l con inmunoanálisis no competitivos (IMA) totalmente automatizados. Atendiendo a criterios de la NACB, el límite de detección bajo de un IMA de tiroglobulina debería ser al menos de esa misma magnitud (1 g/l)¹³.

Obviamente, la validez de un inmunoanálisis, en gran parte, está en función de su capacidad para producir resultados con una mínima imprecisión. En el caso de la tiroglobulina, dado que su uso primordial es la identificación de recurrencias en pacientes con CDT mediante mediciones seriadas de la hormona, la imprecisión ha de ser aceptable a largo plazo, considerando que los intervalos de tiempo entre controles analíticos en estos pacientes oscilan entre 6 y 12 meses. Esta imprecisión será, pues, lo que determine el significado clínico de un cambio de concentración de tiroglobulina. Por consiguiente, el laboratorio habrá de valorar sobre todo la variabilidad interserial (o total) obtenida mediante el uso de controles de diferente concentración (elevada, media y baja) y cuyo estudio se prolongue al menos durante 6 meses^{13,16}. Idealmente, la imprecisión total del inmunoanálisis de tiroglobulina debería ser la mitad de su variabilidad biológica intraindividual (6,5%), objetivo difícil de alcanzar en la práctica pero al cual será preciso aproximarse, ya que una alta imprecisión puede retrasar la detección de progresión o recurrencia del CDT.

Una forma sencilla de eliminar dicha imprecisión consiste en reanalizar la concentración de tiroglobulina en una alícuota almacenada de la muestra precedente junto a la muestra actual en la misma serie analítica, aprovechando que la estabilidad de la tiroglobulina en muestras de suero almacenadas a -20 °C es de hasta un año. También es posible determinar si la diferencia entre 2 valores consecutivos de tiroglobulina es o no significativa si conocemos el valor de referencia del cambio (1) o "diferencia crítica"¹⁷. Para la tiroglobulina, este cambio sería significativo con un 95% de confianza si la diferencia entre ambas mediciones fuera al menos de un 45% (para una variación biológica intraindividual del 13% y analítica del 10%). El uso de esta última opción sólo sería válido si no hay diferencias entre los valores de TSH observados en las muestras de suero a comparar, lo cual podrá asegurarse en condiciones de supresión con hormona tiroidea.

La variabilidad observada entre inmunoanálisis, asumiendo el uso común de un mismo material de referencia, podría explicarse en parte por diferencias en la composición de la matriz exenta de tiroglobulina

(1) Valor de referencia del cambio = $2^{1/2} Z \sqrt{CVA^2 + CVi^2}^{1/2}$; donde el factor $2^{1/2}$ es una constante (1,414) relativa al número de controles (n = 2), Z es otra constante dependiente de la probabilidad (1,96 para un nivel de confianza del 95%) y CVA y CVi son los coeficientes de variabilidad analítico y biológico intraindividual, respectivamente.

usada como vehículo o diluyente de los diversos reactivos del inmunoanálisis o del suero del paciente^{8,13}. También, porque cada laboratorio o fabricante de reactivos emplea sus propios anticuerpos, los cuales, usados como reactivo frente a la tiroglobulina, pueden reconocer diferentes epítomos en la molécula de la hormona. Para minimizar las diferencias debidas a estos factores, lo ideal sería que estos reactivos estuvieran elaborados con suero humano o que tuvieran una composición igual a la de éste, en ningún caso contaminados con tiroglobulina o ATg.

Por todas estas razones, lo recomendable es que las mediciones seriadas de tiroglobulina en un mismo paciente se realicen en el mismo laboratorio y usando el mismo inmunoanálisis¹³.

El "efecto gancho"

Todo inmunoanálisis no competitivo puede producir valores inadecuadamente normales o bajos de la magnitud si sus concentraciones reales en el suero son lo suficientemente elevadas. Este fenómeno paradójico, conocido como "efecto gancho", es el resultado de la presencia en el suero de un exceso masivo del constituyente a determinar, cuya exagerada concentración (> 10 veces el límite superior del intervalo de trabajo del método) supera o agota la capacidad de unión del anticuerpo de captura usado en el inmunoanálisis, todo lo cual se traduce en una señal (isotópica, luminiscente o fluorescente, etc.) inadecuadamente baja y, en consecuencia, en una concentración del análisis falsamente baja¹⁸. La aparición de este artefacto en la determinación de tiroglobulina, aunque muy poco frecuente, puede tener graves consecuencias clínicas y medicolegales. Por consiguiente, el laboratorio clínico que use uno de estos IMA debería poner los medios necesarios para detectar la interferencia y poder determinar la concentración de tiroglobulina con la menor inexactitud posible¹⁹. A este respecto, se han propuesto las medidas siguientes:

1. Usar IMA de desarrollo en 2 etapas, en los que el suero del paciente, en una primera etapa, se incuba con el anticuerpo de captura, se lava después de la reacción eliminando todo posible exceso de antígeno y, a continuación (segunda etapa), se añade el anticuerpo señal al medio donde ha quedado el producto de la primera reacción. Este tipo de IMA, al eliminar el exceso de antígeno, minimiza la probabilidad de aparición del artefacto; sin embargo, debido a la mayor complejidad de su diseño, no suele comercializarse en sistemas totalmente automatizados.

2. Procesar 2 veces, a la vez, cada muestra, una no diluida y otra diluida 1:10. Si en la muestra diluida se observa una concentración de tiroglobulina más elevada que la medida en la no diluida, es probable la existencia del "efecto gancho". Para confirmarlo y eliminarlo es preciso realizar diluciones progresivas de la muestra hasta observar que las concentraciones de tiroglobulina en 2 muestras diluidas consecutivamente son similares.

3. Intercalar en la serie analítica una muestra duplicada, diluida a 1:10 y no diluida, constituida por una mezcla de todas las muestras a analizar. Si la concentración de tiroglobulina en la muestra diluida es superior a la obtenida en la no diluida, será indicativo de "efecto gancho", por lo que habrá que reprocesar duplicados diluidos a 1:10 de todas las muestras para identificar la muestra responsable. Este procedimiento es más barato que el anterior, pues al tratarse de un artefacto de rara presentación (un 0,1% de las muestras con concentraciones de tiroglobulina superiores a 10.000 g/l) la frecuencia de repetición de series analíticas será muy baja.

Interferencias por anticuerpos heterófilos

Los anticuerpos heterófilos (AH) son anticuerpos humanos que pueden unirse a inmunoglobulinas de otras especies animales usadas como reactivo y producir interferencias en el inmunoanálisis. De especial importancia son los anticuerpos humanos antirratón²⁰. En los IMA, la presencia de AH suele interferir produciendo resultados falsamente elevados o falsamente positivos, según haya o no en el suero el constituyente cuya concentración se pretende medir. Esto es debido a que dichos anticuerpos reaccionan con los anticuerpos específicos de origen animal usados en el inmunoanálisis y se forma un puente entre ellos que da lugar a un aumento de la señal de medida²¹. También es posible que produzcan resultados falsamente bajos o falsamente negativos, pero es mucho más raro. Esto último suele deberse a que el interferente reacciona sólo con uno de los anticuerpos específicos e impide la unión con el anticuerpo portador de la señal.

En general, los reactivos de los IMA de última generación contienen agentes bloqueadores que, según los fabricantes, previenen la aparición de interferencias por AH. Sin embargo, a pesar de estas medidas, hay pocos datos que apoyen esta afirmación, pues con relativa frecuencia se publican observaciones de alteraciones analíticas atribuidas a interferencias por estos anticuerpos²⁰. Con respecto a la tiroglobulina, recientemente se ha descrito que la prevalencia de interferencias por AH en un sistema de IMA comercial automatizado es de un 1,5-3% y que, en los pacientes portadores, su presencia puede provocar artefactos clínicamente significativos²⁰. En los pacientes con CDT, la posible aparición de estas interferencias es particularmente inquietante, pues podría llevar a la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas erróneas o innecesarias. Si además, como se sospecha, una de las causas de la aparición de AH es el uso de anticuerpos monoclonales de ratón en medicamentos y técnicas de imagen, con la consecuente inmunización del receptor, es previsible que con su uso progresivo este tipo de interferencia en inmunoanálisis sea cada vez más frecuente.

Prevenir la aparición de interferencias por AH no resulta fácil, pero la vigilancia clínica y el mantenimiento de una estrecha y constante comunicación entre clí-

nicos y bioquímicos clínicos serán cruciales para resolverlas si se sospechara su presencia¹⁹. El hecho de que no se haya observado que un determinado inmunoanálisis de tiroglobulina se afecte con frecuencia por la presencia de AH no quiere decir que sea inmune a ella. Además, ocasionalmente la interferencia puede ser transitoria²⁰.

Para confirmar un resultado dudoso de tiroglobulina no basta con repetir su medición con el mismo inmunoanálisis, pues si se debe a interferencia por AH es muy probable que se reproduzca la anomalía observada previamente. Del mismo modo, también es inseguro usar métodos analíticos para detectar la presencia de AH en la muestra pues, aunque es posible medir algunos tipos de AH, los resultados muestran una pobre correlación con la presencia o ausencia de interferencias clínicamente significativas. Dichos métodos están diseñados para determinar un único subgrupo de AH, generalmente anticuerpos humanos antirrátón, y no detectan los AH poliespecíficos transitorios o permanentes. Otro inconveniente del uso de los métodos disponibles comercialmente para la detección de anticuerpos humanos antirrátón es que muestran entre sí muy poca concordancia, lo que se refleja en las discrepancias entre las tasas de prevalencia descritas en la población normal (1-80%)²².

La forma más sencilla y práctica de comprobar la existencia de un artefacto analítico por AH es repetir el análisis de la muestra sospechosa con un inmunoanálisis diferente, pues la interferencia en un determinado inmunoanálisis puede no aparecer en otro comercializado por un fabricante diferente. Otra forma consiste en diluir la muestra y observar si se pierde linealidad o no. Por último, pueden añadirse a la muestra reactivos bloqueadores de la reacción del AH con los anticuerpos específicos del inmunoanálisis, usando para ello tubos que contienen una mezcla adecuada de inmunoglobulina M antihumana de ratón de alta afinidad por anticuerpos humanos antianimales (HBT, Scantibodies, Santee, CA, EE.UU.)²⁰.

Interferencias por autoanticuerpos antitiroglobulina

La presencia de ATg en el suero es el principal obstáculo para el uso clínico de la medida de tiroglobulina^{6,13}. La prevalencia de ATg en pacientes con cáncer de tiroides es de un 20-30%, mientras que en la población general es de un 10%^{5,9,13,16}. Las concentraciones de ATg que puedan encontrarse en un paciente con CDT antes de someterse a la ablación tiroidea no tienen ningún significado diagnóstico o pronóstico, pues no se relacionan con el estadio tumoral ni con la evolución clínica. Sin embargo, el hallazgo de ATg en el suero de pacientes tiroidectomizados e irradiados indicaría la presencia de tejido tiroideo, por lo que su determinación seriada puede usarse, por sí misma, como indicador pronóstico de la respuesta al tratamiento. Esto parece ser así por-

TABLA 4. Recuperaciones de tiroglobulina (Tg) en sueros de enfermos con cáncer diferenciado de tiroides con diferentes concentraciones de autoanticuerpos antitiroglobulina (ATg)

Sexo	Edad (años)	TSH (mU/l)	Tg (g/l)	ATg (kU/l)	Recuperación de Tg (%)
F	61	24,0	84	162	42
F	23	< 0,03	< 4	166	47
M	49	2,4	< 4	1.813*	98*
F	50	0,06	7	249	58
F	72	< 0,03	9	3.840	66
F	30	5,8	< 4	1.087	55
F	37	0,07	< 4	365	100
M	13	13,0	< 4	4.600	39
F	58	0,30	< 4	225	50
F	72	< 0,03	< 4	2.628	39
F	25	256,0	< 4	278	39
M	70	< 0,03	7	381	50
F	24	158,0	< 4	130*	53*
F	48	< 0,03	< 4	1.333	40
F	54	< 0,03	< 4	360	93
F	33	175,0	< 4	193	100
F	48	134,0	11	336	100
F	42	0,20	< 4	116	80
F	55	< 0,03	< 4	106	82

TSH: tiotropina; F: femenino; M: masculino;

Datos procedentes de una serie analítica de 19 sueros de pacientes con cáncer diferenciado de tiroides, tiroidectomizados e irradiados, obtenidos con una técnica inmunoradiométrica de Tg comercial de desarrollo manual²⁶.

*Pacientes en los que se obtienen recuperaciones normales o bajas de Tg teniendo, respectivamente, concentraciones elevadas o bajas de ATg.

que la concentración de autoanticuerpos en el suero generalmente disminuye con el tiempo si desaparece el estímulo antigénico continuado. Por el contrario, si el paciente muestra enfermedad persistente o progresiva, la concentración de ATg permanece en el suero relativamente constante o aumenta.

El principal problema que plantea la aparición de ATg en el suero es la interferencia que puede producir en los sistemas inmunoquímicos diseñados para la medida de la concentración de tiroglobulina^{9,23,24}. Además, no existe todavía ningún inmunoanálisis comercial que esté libre de tales interferencias, a pesar de que algunos IMA desarrollados más recientemente presuman de minimizarlas^{9,13,16}. Debido a la heterogeneidad de la tiroglobulina y de los ATg, ni la magnitud de la concentración de éstos en el suero ni la práctica de técnicas de recuperación usando tiroglobulina exógena permiten predecir con absoluta seguridad si producirán o no interferencias en el inmunoanálisis de tiroglobulina^{9,25,26} (tabla 4).

Al contrario de lo que podría esperarse, no hay correspondencia entre la concentración de ATg y el grado de interferencia en los inmunoanálisis de tiroglobulina, de tal modo que es posible observar que aquella no se produce en sueros con elevada concentración de ATg y, por el contrario, aparece una clara interferencia en otros con concentraciones mucho más bajas⁹. Es decir, potencialmente cualquier concentración de ATg es susceptible de interferir en cualquier inmunoanálisis. Por esta razón es preciso que la medida de la concentración de tiroglobulina siempre vaya asociada, en la misma

TABLA 5. Determinación de autoanticuerpos antitiroglobulina (ATg) en 317 sueros, realizada por 2 inmunoanálisis comerciales diferentes usados en laboratorios clínicos diferentes

Método	ATg (kU/l)						
	< 6	6-10	10-20	20-30	30-40	40-150	> 150
1	239	26	20	6	4	4	18
2	299 negativos						18

Método 1: enzimoimmunoanálisis quimioluminométrico automatizado usado por el mismo laboratorio que realiza las mediciones de tiroglobulina; límite de detección bajo estimado en 6 kU/l; método 2: enzimoimmunoanálisis usado en el laboratorio donde habitualmente se determinan autoanticuerpos antitiroideos y que sólo indica el límite superior de los valores de referencia (150 kU/l). Cada uno de estos inmunoanálisis, ambos estandarizados frente a WHO 1st IRP (1 Preparación Internacional de Referencia de la OMS), se usa en laboratorios diferentes del mismo centro.

Los resultados (datos no publicados) se representan como número de observaciones por intervalo de concentración para señalar que en el laboratorio que usa el método 2, que sólo distingue entre valores menores y mayores de 150 kU/l ("negativos" y "positivos", respectivamente), puede pasar inadvertida la presencia de ATg en algunos pacientes; por el contrario, con el método 1 es más probable su identificación.

muestra, a la de ATg, y que esta última se realice mediante inmunoanálisis con alta capacidad para detectar concentraciones muy bajas. El laboratorio clínico debería recurrir siempre a estos inmunoanálisis para validar los resultados de tiroglobulina. Las técnicas de inhibición de la hemaglutinación tradicionalmente usadas para la detección de ATg en pacientes con enfermedad tiroidea autoinmunitaria carecen de sensibilidad suficiente y no deberían usarse con este objeto en pacientes con CDT. Igualmente, todo inmunoanálisis comercial que vaya a usarse con este mismo fin debería validarse previamente en lo que se refiere a detectabilidad, y no deberían darse por buenos los valores de corte que habitualmente propone el fabricante para considerar positiva o negativa la presencia de ATg en el suero en la enfermedad autoinmunitaria²⁴. En la tabla 5 se representan los resultados de las mediciones de ATg realizadas en 2 laboratorios diferentes con inmunoanálisis también diferentes; uno de estos laboratorios señala un valor límite para indicar positividad o negatividad, mientras que el otro expresa el límite de detección de la técnica. Asimismo, es importante que el laboratorio clínico que mida la concentración de tiroglobulina sea el mismo que mida la de ATg, puesto que es en éste donde se asume la responsabilidad de validar los resultados de tiroglobulina.

La interferencia de los ATg en los inmunoanálisis de tiroglobulina puede ser positiva o negativa, según produzca, respectivamente, un aumento o una disminución de la concentración del analito. La interferencia, además, es dependiente del suero y del método analítico; del suero, por la propia heterogeneidad del anticuerpo ya mencionada anteriormente, y del método, por las diferencias entre diseños, según se trate de inmunoanálisis competitivos (p. ej., RIA) o no competitivos (p. ej., IRMA o, en general, IMA). Los primeros suelen sobrestimar la concentración de tiroglobulina, mientras que los segundos la subestiman. Así pues, en una misma muestra de suero que contenga ATg no será infre-

cuente observar resultados discordantes de tiroglobulina si su concentración se mide por los 2 tipos de inmunoanálisis. Esta discrepancia se ha propuesto como señal inequívoca de interferencia por ATg en la medida de tiroglobulina, y se ha recomendado el uso de ambos inmunoanálisis (RIA e IMA) para identificarla¹³.

La omisión de una interferencia por ATg en la medida de tiroglobulina puede tener consecuencias clínicas importantes. Así, la subestimación de la concentración de tiroglobulina debido al uso de un IMA puede hacer que pase inadvertida la aparición de metástasis y que no se realicen las intervenciones clínicas adecuadas en un paciente con CDT. Por el contrario, su sobrestimación, más frecuente con técnicas de RIA, puede promover la toma de decisiones clínicas innecesarias y la preocupación del paciente. Por consiguiente, el laboratorio clínico nunca debería aceptar como válidos resultados de tiroglobulina obtenidos en sueros en los que se ha detectado la presencia de ATg. Cuando, a pesar de ésta, el especialista del laboratorio decide entregar los resultados, siempre debería hacerlo adjuntando una nota de atención dirigida al médico clínico en la que se le advierta de que no son fiables y se le recomiende que los interprete con la mayor precaución; asimismo, debería informarse siempre al médico clínico sobre el método usado en la medida de tiroglobulina y la tendencia que seguiría un resultado de tiroglobulina obtenido en presencia de ATg.

Por último, si el laboratorio considera oportuno cambiar el método de medida de tiroglobulina, debería comunicarlo previamente al médico clínico, ya que éste deberá determinar la necesidad o no de establecer nuevas medidas basales en sus pacientes. Arbitrariamente, esta necesidad se establece cuando el sesgo del nuevo método con respecto al anterior supera el 10%.

CONCLUSIONES

La determinación de las concentraciones de tiroglobulina en el suero representa uno de los mayores desafíos para el laboratorio clínico. El principal obstáculo para su uso clínico sigue siendo la presencia de ATg en el suero. Sin embargo, en la mayoría de los pacientes será posible hacerlo con fiabilidad si se toman las medidas y consideraciones siguientes:

- El inmunoanálisis para la medida de tiroglobulina en el suero debería estandarizarse frente a la preparación de referencia CRM-457 certificada por la BCR.
- Los resultados obtenidos con diferentes inmunoanálisis de tiroglobulina no son conmutables, por lo que la monitorización de sus concentraciones en un mismo paciente con CDT debería hacerse con el mismo inmunoanálisis y, a ser posible, en el mismo laboratorio.
- El límite de detección bajo ("sensibilidad funcional") debería determinarse a partir del perfil de imprecisión interserial producido durante un mínimo de 6 meses (período representativo del intervalo de tiempo

usado para evaluar al paciente con CDT). El límite de detección bajo máximo recomendado por la NACB es de 1 g/l.

– La imprecisión interserial durante 6-12 meses determina el significado clínico de un cambio de concentración de tiroglobulina.

– Una alta imprecisión analítica puede retrasar la detección de progresión o recurrencia de la enfermedad tumoral tiroidea.

– Eliminar imprecisión interserial reprocesando la muestra previa en la serie analítica actual (la estabilidad de tiroglobulina en suero es de un año a -20°C).

– La concentración de tiroglobulina puede llegar a ser muy elevada en pacientes con enfermedad metastásica, por lo que, para obviar el “efecto gancho”, conviene usar inmunoanálisis con amplio intervalo de trabajo, de desarrollo en 2 etapas, o procesar 2 veces cada muestra (una no diluida y otra diluida a 1:10).

– La presencia de anticuerpos heterófilos en el suero debería sospecharse si se observan cambios inesperados en la concentración de tiroglobulina.

– En presencia de ATg, los inmunoanálisis no competitivos (p. ej., IRMA) suelen producir concentraciones de tiroglobulina falsamente bajas o indetectables, mientras que los competitivos (p. ej., RIA) generalmente producen valores falsamente elevados.

– En presencia de ATg en el suero, el laboratorio deberá informar al usuario de que el resultado de la medida de tiroglobulina no es fiable. El laboratorio deberá conocer la dirección en que dichos ATg suelen modificar las concentraciones de tiroglobulina con el método usado.

– El grado de interferencia por ATg en los inmunoanálisis no depende de la concentración de éstos en el suero.

– La interferencia por ATg puede sospecharse si se observa discordancia entre los resultados de tiroglobulina medida por inmunoanálisis competitivo y no competitivo.

– Las pruebas de recuperación de tiroglobulina no son válidas para predecir interferencia por ATg.

– La determinación de tiroglobulina debe ir acompañada por la de ATg en la misma muestra.

– Para la medida de ATg debería usarse inmunoanálisis con límite de detección muy bajo.

– La medida de ATg en un mismo paciente debería realizarse en el mismo laboratorio que mide la concentración de tiroglobulina, pues es el responsable de la validación-autenticación del resultado de la tiroglobulina obtenido. El laboratorio deberá informar de todo resultado de tiroglobulina obtenido en pacientes con ATg en el suero.

BIBLIOGRAFÍA

1. Van Herle AJ, Vassart G, Dumont JE. Control of thyroglobulin synthesis and secretion (first of two parts). *N Engl J Med* 1979; 301:239-49.

2. Van Herle AJ, Vassart G, Dumont JE. Control of thyroglobulin synthesis and secretion (second of two parts). *N Engl J Med* 1979;301:307-14.
3. Unger J, Van Heuverswyn B, Decoster C, Cantraine F, Mockel J, Van Herle A. Thyroglobulin and thyroid hormone release after intravenous administration of bovine thyrotropin in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51:590-4.
4. Bertaux F, Noel M, Malthiery Y, Fragu P. Demonstration of a heterogeneous transcription pattern of thyroglobulin mRNA in human thyroid tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 178:586-92.
5. Torrens JI, Burch HB. Serum thyroglobulin measurement. Utility in clinical practice. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30:429-67.
6. Mazzaferri EL, Robbins RJ, Spencer CA, Braverman LE, Pacini F, Wartofsky L, et al. A consensus report of the role of serum thyroglobulin as a monitoring method for low-risk patients with papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1433-41.
7. Van Herle AJ, Uller RP, Matthews NI, Brown J. Radioimmunoassay for measurement of thyroglobulin in human serum. *J Clin Invest* 1973;52:1320-7.
8. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyroglobulin assays. *Clin Chem* 1996;42:164-73.
9. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, Wang CC, Guttler RB, Singer PA, et al. Serum thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement, and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1121-7.
10. Black EG, Hoffenberg R. Should one measure serum thyroglobulin in the presence of anti-thyroglobulin antibodies? *Clin Endocrinol* 1983;19:597-601.
11. Mariotti S, Barbesino G, Caturegli P, Marino M, Manetti L, Pacini F, et al. Assay of thyroglobulin in serum with thyroglobulin autoantibodies: an unobtainable goal? *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:468-72.
12. Clark PM, Beckett G. Can we measure thyroglobulin? *Ann Clin Biochem* 2002;39:196-202.
13. Demers LM, Spencer CA. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. 7-13-2002. Disponible en: <http://www.nocb.org/lmpg/thyroid/LMPG.stm>
14. Feldt-Rasmussen U, Schlumberger M. European interlaboratory comparison of serum thyroglobulin measurement. *J Endocrinol Invest* 1988;11:175-81.
15. Feldt-Rasmussen U, Profilis C, Collinet E, Schlumberger M, Black E. Purification and assessment of stability and homogeneity of human thyroglobulin reference material (CRM 457). *Exp Clin Endocrinol* 1994;102:87-91.
16. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, et al. Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid* 2003;13:3-126.
17. Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. Washington: AACCPress, 2001.
18. Cole TG, Johnson D, Eveland BJ, Nahm MH. Cost-effective method for detection of “hook effect” in tumor marker immunometric assays [carta]. *Clin Chem* 1993;39:695-6.
19. Rodríguez Espinosa J, Urgell E, Murugó M, Gratacós MJ, Giner P, Mora J. Detección de interferencias por autoanticuerpos en inmunoanálisis de hormonas tiroideas. *Quím Clín* 2000;19: 199-203.
20. Preissner CM, O’Kane DJ, Singh RJ, Morris JC, Grebe SK. Phantoms in the assay tube: heterophile antibody interferences in serum thyroglobulin assays. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:3069-74.

Rodríguez-Espinosa J. Problemas de la determinación de tiroglobulina

21. Camacho T, Mora J, Segura A, Guitián J, Lema F, Bandín J, et al. Falsely increased prostate-specific antigen concentration attributed to heterophilic antibodies. *Ann Clin Biochem* 2002; 39:160-1.
22. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-56 [fe de errores: 2000; 46:1722].
23. Rodríguez J, Urgell E, Mora J. Uso arriesgado de los inmunoanálisis de tiroglobulina en enfermos con carcinoma diferenciado de tiroides. *Endocrinol Nutr* 1997;44:380-2.
24. Cubero JM, Rodríguez-Espinosa J, Gelpi C, Estorch M, Corcoy R. Thyroglobulin autoantibody levels below the cut-off for positivity can interfere with thyroglobulin measurement. *Thyroid* 2003;13: 559-61.
25. Spencer CA. Recoveries cannot be used to authenticate thyroglobulin (Tg) measurements when sera contain Tg autoantibodies. *Clin Chem* 1996;42:661-3.
26. Urgell E, Gratacós MJ, Murugó M, Mayoral C, Mora J, Rodríguez Espinosa J. Interferencia de los anticuerpos antitiroglobulina (AcTg) en la determinación de Tiroglobulina (Tg) en suero [resumen]. *Quím Clín* 1997;16:237.