PRUEBAS DE FUNCION TIROIDEA

Dr. Enrique Archila A.
Dr. Francisco De Castro Gómez

Esta información hace referencia únicamente a aquellas pruebas que buscan medir la hormona tiroidea circulante como expresión del funcionameinto de la glándula Tiroides.

Dos hechos fundamentales deben ser tenidos en cuenta:

1) Las hormonas tiroideas son compuestos iodados.

2) Estas hormonas no circulan libremente, sino ligadas a proteínas portadoras específicas.

Con relación al primer hecho, la presencia de iodo en las hormonas Tiroideas ha sido el factor de desarrollo de las pruebas habitualmente usadas hasta hoy y suficientemente conocidas como PBI, BEI y T4 por columna que, en teoría al menos, miden directamente la hormona tiroidea, determinando el iodo de esta hormona por medios químicos.

PBI. Iodoproteína, Iodo proteico, Iodo ligado a proteínas.

Hasta hoy continúa siendo la prueba más conocida y más empleada, pese a sus múltiples limitaciones, pues sus resultados son grandemente influenciados por las contaminaciones con iodo exógeno, ya sea orgánico o inorgánico.

Este método está basado en la precipitación de las proteínas del suero y del iodo a ellas ligado, la destrucción posterior de estas proteínas y la determinación subsiguiente del iodo.

Desafortunadamente no solamente precipita y se determina el iodo de la tiroxina, sino el de las mono y diiodotirosinas sin actividad hormonal, lo mismo que el iodo orgánico e inorgánico de origen exógeno, lo que hace esta prueba inservible en pacientes que reciben medicamentos que contengan ioduros, pero especialmente en aquellos que han recibido drogas que contienen iodo orgánico con fines radiológicos.

En estos casos el PBI puede durar muy elevado para toda la vida (Broncografías, mielografías).

BEI. Iodo extraíble por butanol, Iodo butanol extraíble.

Un refinamiento del método anterior, en el cual se hace una extracción del suero con n-butanol, el cual extrae casi exclusivamente las iodotirosinas hormonalmente activas y elimina en buena parte la contaminación por iodo inorgánico. La determinación posterior del iodo es similar a la del método anterior (PBI) y sus resultados se interpretan de la misma manera. Los valores obtenidos son ligeramente inferiores, debido a que se eliminan algunas de las

contaminaciones por iodo inorgánico, pero persisten la mayoría de las debidas a iodo orgánico exógeno (materiales de uso radiográfico).

La mayor complicación técnica de este método y las pequeñas ventajas que proporciona no han favorecido su amplia difusión.

T4. por columna: Tiroxina por columna.

Este método de entrada más reciente está fundado en la fijación casi selectiva de la tiroxina del suero sobre resinas de intercambio iónico. (Las iodotirosinas inactivas se eliminan por lavados sucesivos de la columna y la Tiroxina se extrae por lavado de la resina con soluciones tampones (buffer) de acetato de pH 1.3 a 1.4). Sobre la columna queda fijado prácticamente todo el iodo inorgánico contaminante.

La determinación posterior del iodo de la Tiroxina se hace por el mismo sistema que en los métodos anteriores (PBI, BEI).

De los tres métodos citados, indudablemente este último, T4 por columna, está llamado a desplazar a los dos anteriores (PBI, BEI), ya que por este sistema se eliminan por completo las contaminaciones por iodo inorgánico aun muy altas y en gran parte, aunque no del todo, las debidas a iodo orgánico, pues siempre persisten algunas de las ocasionadas por ciertos medios de contraste iodado (Telepaque).

Recientemente el empleo de resinas de intercambio aniónicas (Amberlite IRA 400 Cl, Dowex, etc.) ha eliminado la tediosa operación de precipitación de las proteínas y el repetido lavado de las mismas, al mismo tiempo que ha mejorado las técnicas al eliminar casi completamente las contaminaciones por iodo orgánico. Esta modificación es adaptable a los métodos usuales de incineración alcalina y digestión ácida.

Determinación del iodo. Reacción cérico-arsenito.

Infortunadamente todas estas técnicas utilizan para la determinación del iodo esta reacción catalítica, que si bien es cierto es extremadamente sensible, ya que permite cuantificar cantidades de 0.001 ug. de I, por otra parte está sujeta al efecto de gran número de contaminantes que la inhiben por completo o la deprimen al punto de constituir serias fuentes de error. Esta acción se hace sentir preferentemente sobre las técnicas de digestión ácida con ácido clórico, obligando en muchas ocasiones a repetir estas determinaciones varias veces.

Entre los inhibidores totales de la reacción deben citarse el mercurio y sus sales, y las sales de plata. Entre los que la deprimen, las sales de potasio, litio, agitadores de madera o de plástico, substancias en los tapones de caucho, etc. Son tantas y tan variadas las substancias que pueden interferir con esta reacción que la convierten en ocasiones en un verdadero problema de difícil solución.

T4 y T3 con radioisótopos

Todos estos problemas, y la necesidad de contar con métodos fieles, cuyos resultados no sean alterados ni influídos por la presencia de iodo o de los inhibidores citados, han llevado al desarrollo de nuevos métodos no químicos entre los cuales merecen citarse, por su posibilidad de ser llevados a cabo en los Laboratorios Clínicos, dos que tienen como fundamento el empleo de isóto-

pos radioactivos, en la forma de iodo 125 o iodo 131. La selección del empleo de I 125 o de I 131 es cuestión más que todo de comodidad y de facilidad en su consecución, ya que el I 131 con una vida media de ocho días no se presta para trabajar en lugares alejados de las fuentes de producción, en tanto que el I 125 con una vida media de 60 días permite una mayor amplitud en la programación de las pruebas.

Proteínas portadoras de la tiroxina

Antes de entrar a considerar estas dos pruebas, debemos recordar lo dicho al comienzo de esta exposición, sobre los dos hechos fundamentales que han permitido el desarrollo de las pruebas para la medida de las hormonas tiroideas. Ambos hechos son básicos para estos métodos.

1) Presencia de iodo en las hormonas tiroideas.

En los métodos con isótopos se aprovecha la presencia de iodo en la molécula de la Tiroxina y de la Triiodotironina para substituir el I por uno de sus isótopos, I 125 o I 131, con lo cual se consigue "marcar" las moléculas de estas hormonas y hacerlas "visibles" por así decir a los contadores de partículas gamma, con lo que se consigue su cuantificación de manera precisa y sin los problemas inherentes a la determinación química del iodo. Por otra parte se obtiene una medida más directa de la Tiroxina, pues el iodo que se mide es únicamente el incorporado a su molécula y el contaminante o extraño no tiene ninguna influencia.

2) Las hormonas tiroideas circulan ligadas a proteínas portadoras específicas.

Tres son las proteínas que ligan a las hormonas tiroideas:

Una prealbúmina (TBPA) con una cifra de 140 ugms./100 ml. de plasma.

Una albúmina (TBA) con una cifra de 39 ugms./100 ml. de plasma.

Una globulina (TBG) con una cifra de 20 ugms./100 ml. de plasma.

De estas tres proteínas, la globulina (TBG) es la que realmente interesa ,ya que transporta más del 90% de la Tiroxina y la unión o ligación de ésta a la globulina es bastante firme.

Las otras dos, TBPA y TBA, actúan como sitios de ligación secundarios, la unión de la tiroxina a ellas es más débil y se puede impedir por dilución del suero en tampones de barbital-salicilato.

De las dos hormonas biológicamente activas, Triiodotironina (T3) y Tiroxina (T4), ésta última constituye la más importante en cantidad y circula ligada a la TBG en un 99.9%. Solamente un 0.1% circula al estado libre.

Esta fracción libre de la Tiroxina, a pesar de ser tan pequeña parece que es la verdaderamente activa a nivel tisular, ya que dializa fácilmente a través de las membranas celulares. Parece cierto también que el equilibrio tiroideo y el mecanismo de estímulo sobre la TSH hipofisiaria está condicionado a la conservación de una cantidad constante de esta fracción libre. A una disminución o un aumento en esta fracción corresponde un estímulo o un freno a la producción de TSH hipofisiaria, para mantener este equilibrio.

De esto se desprende que sería de gran importancia la medida directa de esta fracción libre de la Tiroxina (T4L), pero su pequeñísima cantidad (0.1% de 6 ugms./100 ml. de plas-

ma) hace esta determinación muy difícil. Existen técnicas para ello, pero por ahora son del campo investigativo y no tienen cabida en el Laboratorio Clínico.

Como medida directa de la Tiroxina (T4) debemos hacer la de la T4 ligada más la T4 libre, es decir, la T4 total.

Globulina fijadora de Tiroxina (TBG)

Esta globulina que fija específicamente la Tiroxina se encuentra en el plasma en una cantidad de 20 ugms. 100 ml. y tiene habitualmente un contenido o saturación de Tiroxina T4 de 30%. Sus "sitios de ligación" equivalen aproximadamente a 20 ugms. de T4/100 ml. de plasma.

Un hecho importante que debe ser tenido en cuenta, es que las variaciones en la cantidad o concentración de esta globulina en el plasma afectan en proporción directa el contenido de Tiroxina. Si la cantidad de TBG aumenta, la Tiroxina también aumenta y por lo tanto los valores de PBI, BEI y T4. Si por el contrario TBG disminuye, estos valores disminuyen también.

Es importante por lo tanto saber que TBG aumenta en los siguientes casos: embarazo, pacientes que reciben estrógenos, anovulatorios, fenilbutazona o fenilhidantoína. En estos casos los valores de PBI, BEI o T4 por cualquier método se encuentran aumentados.

Por el contrario, TBG disminuye cuando hay hiproteinemia, en nefrosis y en tratamiento por andrógenos.

Además de estos factores, se ha demostrado que TBG está ligada genéticamente al cromosoma sexual X. Se han hallado familias con herencia de deficiencia y también con herencia de aumento. En este caso los sujetos afectados de estos defectos genéticos pueden tener ausencia casi total de TBG, o exceso notorio de la misma. En ellos, los valores de PBI, BEI o T4 serán muy bajos o muy altos respectivamente, sin que ello implique ningún desequilibrio tiroideo. En estos sujetos estas pruebas no sirven solas, y es necesario complementarlas con otras como el T3, o la medición directa de TBG.

Nos hemos extendido quizá un poco en este punto, pero es indispensable para comprender el fundamento de las pruebas que reseñamos a continuación.

T4 con I 125

Esta prueba es una medida directa de la Tiroxina total circulante (T4 ligada a TBG y T4 libre) y está basada en un hecho que Ekins llamó "análisis por saturación" y Murphy y Pattee "análisis por competencia en la ligación a las proteínas" (competitive protein-binding analysis).

Brevemente diremos que el fundamento de esta prueba se basa en los siguientes hechos:

a) Existencia de una proteína con función de ligación de la Tiroxina (TBG).

b) Especificidad de la ligación de la Tiroxina a TBG.

c) Posibilidad de marcar la Tiroxina con isótopos de I (I 125, I 131).

d) El hecho de que la proteína ligadora (TBG) no distingue, para su ligación entre T4 pura y T4 marcada (T4 I 125).

e) El fenómeno descrito por los autores citados, de que si a una mezcla de TBG y T4 I 125 se agrega pos-

teriormente T4 pura, rompe el equilibrio dinámico que existía en la mezcla anterior y se establece un nuevo equilibrio, al cabo generalmente de un corto teimpo, debido a que esta T4 pura se ha difundido uniformemente en la mezcla anterior y se ha ligado en una proporción análoga a la de T4 I 125; pero como la capacidad de saturación o ligación de TBG está limitada, esta nueva ligación ocasiona un desplazamiento o liberación de T4 I 125, que es directamente proporcional a la cantidad de T4 pura que se ha ligado.

En la práctica este método consiste en preparar una solución de TBG pura y saturarla con T4 I 125. Agregar luego a una cantidad medida de esta mezcla la cantidad desconocida de T4 extraída por etanol de una cantidad medida del suero del sujeto.

Dejar esta mezcla el tiempo necesario para alcanzar el nuevo estado de equilibrio y agregar una resina, que servirá luego como sitio de ligación secundario para la T4 I 125 liberada o desalojada de TBG por la T4 del suero del desconocido.

Se lava esta resina, con lo que se consigue retirar por completo la Globulina TBG y la T4 ligada a ella, quedando únicamente la resina con la Tiroxina T4 I 125 fijada o "captada" por la resina. Si en este momento se hace una nueva medida de la radioactividad, ésta corresponde a la cantidad de T4 I 125 liberada, que como dijimos, es directamente proporcional a la cantidad de T4 pura del suero que se agregó.

Se preparan patrones con una mezcla análoga de TBG + T4 I 125 a los cuales se agregan cantidades variables de Tiroxina pura y de esta manera se establece una curva patrón que permite comparar los valores obtenidos en los desconocidos.

El resultado se expresa como Tiroxina, T4.

Esta prueba es indudablemente una medida directa de la Tiroxina sérica y es de mucha exactitud pues carece de las causas de error habituales y demasiado frecuentes en las determinaciones de PBI, BEI o T4 por columna.

Sus valores se relacionan muy bien con los de PBI y su interpretación es análoga. Las cifras normales halladas por este método son de 4 a 11 ugms./100 ml. como Tiroxina.

T3 I 125

Esta segunda prueba con isótopos, un poco más nombrada que la anterior, es una medida indirecta de la Tiroxina (T4), pues se relaciona principalmente con la cantidad y saturación de la Globulina portadora (TBG).

Su fundamento es el siguiente:

Ya vimos que esta Globulina (TBG) se encuentra en el plasma en una concentración de aproximadamente 20 ugms./100 ml. y que la capacidad de sus "sitios de ligación" equivale a unos 20 ugms. de Tiroxina (T4).

En el estado eutiroideo la cantidad de Tiroxina es como vimos antes de 4 a 11 ugms. por 100 ml., es decir, ocupa una parte, no toda, de la Globulina TBG; en el hipertiroidismo la cantidad de T4 ligada aumenta y lo contrario sucede en el hipotiroidismo donde esta cantidad desciende.

En este momento debemos hacer notar nuevamente que la ligación de T4 a TBG es firme y específica y que en presencia de T4 y Triiodotironina (T3), la ligación se hace prefe-

rentemente con T4; solamente la fracción de TBG dejada libre por falta de T4, ligará la T3 agregada.

Si a una cantidad medida de suero (y por lo tanto de TBG) agregamos una cantidad también medida de Triiodotironina marcada (T3 I 125), ésta se fijará o será ligada a TBG en la proporción que lo permita la cantidad de T4 previamente ligada a TBG.

Por lo tanto la cantidad de T3 que se ligue será inversamente proporcional a la de T4 del suero. Es decir, será baja en el hipertiroidismo y alta en el hipotiroidismo.

Después de un tiempo para que se realice el equilibrio, como en el caso anterior, agregamos una resina que sirva como sitio de ligación secundario para la T3 no ligada o libre. La resina ligará la T3 libre cuya cantidad será mayor en el hipertiroidismo y menor en el hipotiroidismo.

Como en el caso de la prueba anterior, se hace un lavado de la resina después del tiempo necesario para el equilibrio, o lo que es lo mismo, para que la ligación se haya efectuado, lavado que tiene por objeto retirar el suero y la T4 y T3 ligadas a su Globulina TBG.

En la columna y sobre la resina queda únicamente ésta con la T3 ligada.

Si se mide la radioactividad inicial, antes de lavar la resina, esta equivale a la radioactividad total y si se hace una nueva medición después de lavar la resina, esta segunda medida o final, correspsonde únicamente a aquella fracción de T3 I 125 no ligada a TBG y "captada" por la resina. Se establece una relación entre esta medida y la inicial y se expresa su valor como porcentaje de la T3 "captada" por la resina.

$$\frac{\text{T3 final (cpm)}}{\text{T3 inicial (cpm)}} \times 100 = \text{porcentaje de captación por resina}$$

Hay que hacer notar que en esta prueba, las variaciones en la cantidad o concentración de TBG en el plasma también hace nvariar, pero en **sentido inverso** los valores de esta captación. En esta prueba un aumento en TBG produce una disminución en el resultado de T3 y viceversa.

Por el contrario como indicación del equilibrio tiroideo sus variaciones siguen la misma dirección que las pruebas directas, es decir sus valores son altos en hipertiroidismo y bajos en hipotiroidismo.

Este hecho permite usar la combinación de dos pruebas, una directa PBI, BEI, o T4 por una parte y T3 por otra parte, para establecer con bastante exactitud el verdadero equilibrio tiroideo del paciente, especialmente en aquellos casos en que se pueda presumir una alteración en la Globulina portadora de la Tiroxina (TBG).

Estos casos se presentan especialmente en mujeres, por embarazo, terapéutica con estrógenos, empleo de anovulatorios etc., y es precisamente este grupo de población, las mujeres entre la adolescencia y la menopausia, el que con mayor frecuencia presenta afecciones tiroideas.

En estos casos una cifra de PBI de 8 ugms. puede estar enmascarando un hipotiroidismo, que sería puesto de manifiesto si al mismo tiempo se hiciera una prueba de T3. Basándose en el mecanismo de estas pruebas, directas e indirectas, y aceptando que el equilibrio tiroideo se conserva co-

mo resultado de un nivel o concentración invariable de Tiroxina libre, algunos autores han establecido una relación entre estas dos pruebas y han sugerido el empleo de algunos índices que permitan establecer de una manera más o menos aparente el valor de esta Tiroxina libre.

Así, Clark y Horn establecieron lo que llaman el Indice de Tiroxina libre, que lo obtienen como el producto matemático de PBI x T3%, pero expresado este último como la relación entre T3% del desconocido y T3 de un suero normal. Esta relación se expresa así:

$$\text{Indice de Tiroxina Libre (Clark-Horn)} = \frac{\text{T3 \% (desconocido)}}{\text{T3 \% (Normal)}} \times \text{PBI}$$

y han dado los siguientes valores como normales:

$$\frac{\text{T3 \% desc.}}{\text{T3 \% norm.}} = 0{,}82 - 1.28$$

o índice de Tiroxina Libre = 2.23 - 7-08

Otros autores (Golden, Osorio, etc.) han derivado también una relación estrecha entre los valores de estas pruebas y han establecido lo que ellos llaman el: "Factor de Tiroxina Libre". Sus fórmulas matemáticas son bastante complejas y últimamente han aparecido algunos monogramas que permiten calcular este Factor de manera más rápida sin necesidad de recurrir a la aplicación de estas ecuaciones.

En todo caso, la existencia de esta relación es un hecho de mucha utilidad para el empleo de estas pruebas combinadas.

Naturalmente, y no sobra decirlo, para que el resultado de esta combinación de pruebas tenga valor, es absolutamente indisepnsable que la prueba directa (PBI) esté absolutamente exenta de error, pues de lo contrario el cálculo final sería erróneo.

Desafortunadamente P B I sigue siendo la prueba más empleada y es por lo demás la más sujeta a toda clase de fallas. Por eso la tendencia hoy es a substituirla por T4, ya sea por columna o T4 I 125.

Resumen

1) La presencia de Iodo en las hormonas tiroideas ha permitido el desarrollo de pruebas para la medida "directa" de la Tiroxina, al medir el I de estas hormonas por medios químicos (PBI, BEI, T4 por columna).

Desafortunadamente estas pruebas están sujetas a grandes errores por contaminación en unos casos (PBI) y por inhibición de la reacción en todos (PBI, BEI, T4 por columna).

2) La misma presencia de Iodo en estas hormonas, y su transporte ligadas a proteínas específicas (TBG) han contribuído al desarrollo de técnicas que emplean isótopos del I, (I 131, I 125).

De estas pruebas, T4 mide directamente la Tiroxina del plasma, sus resultados se expresan en ugms. de Tiroxina/100 ml. de suero, su interpretación es la misma que para las otras pruebas directas (PBI, BEI, T4 por columna) y está sujeta a menos causas de error que las anteriores.

La otra prueba T3, es una medida indirecta de la Tiroxina, relacionada con la cantidad y saturación de la TBG en T4.

3) El uso combinado de estas dos pruebas T4 y T3 permite conocer el estado de equilibrio tiroideo en situaciones en que una sola prueba (cua-

lesquiera de las dos) sería insuficiente (Embarazo, uso de anovulatorios, estrógenos etc.).

4) Entre las pruebas "directas" PBI, BEI y T4 por columna, debe preferirse esta última ya que corresponde más exactamente al verdadero valor de la Tiroxina, pero no sin olvidar que esta prueba está sujeta a problemas de contaminación con inhibidores de la reacción sérico-arsenito que la puede hacer en ocasiones de poco valor. En estos casos es preferible recurrir a T4 I 125, cuyos resultados son bastante más confiables.

5) Por el uso combinado de T4 y T3 puede calcularse ya sea el "índice de Tiroxina libre" de Clark y Horn, o el "Factor de Tiroxina libre" de Golden, con lo cual se llega muy cerca de establecer el verdadero valor de la Tiroxina libre, que como señalamos parece ser la fracción hormonal realmente responsable del equilibrio tiroideo.

Summary

1. The presence of Iodine in the thyroid hormones has permitted the development of tests for a "direct" measurement of thyroxin by measuring the Iodine present in these hormones through chemical means. (PBI, BEI, and T4 per column).

Unfortunately, these tests are subject to great errors because of contamination in some cases (PBI), and inhibition of the reaction in all of them. (PBI, BEI, and T4 per column.).

2. The presence of the same Iodine in these hormones, and its transport bound to specific proteins (TBG) have contributed to the development of techniques employing Iodine isotopes I 125, I 131.

From these tests, T4 can measure directly the thyroxin/100 ml of intravenous. Its interpretation is the same as for other tests (PBI, BEI, T4 per column) and is subject to less error than others.

The T3 test is an indirect measure of thyroxin related to the amount and saturation of TBG in T4.

3. The combined use of these two tests, T4 and T3, allows for knowing the thyroid equilibrium in the case that only one test would not be sufficient. (Pregnancy, use of contraceptives, estrogens, etc.).

4. Among the "direct" tests, PBI, BEI, and T4 per column, the last one must be chosen as closer to the exact measure of thyroxin with the consideration that this might be contaminated with inhibitors of the cericoarsenite reaction, causing the test to be useless. In these cases it is preferable to have recourse to T4, I 125, with more reliable results.

5. By the combined use of T4 and T3 either the "Free Thyroxin Index" of Clark and Horn, or the "Free Thyroxin Factor" of Golden may be used. With this procedure, one obtains a very close measure of the free thyroxin which we consider to be the hormonal fraction directly responsible for thyroid equilibrium.