

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

**INSTITUTO BIOMÉDICO**

**CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

**LIA RAFAELLA BALLARD KUHNERT**

**TIREOIDITE DE HASHIMOTO, ASPECTOS FUNDAMENTAIS E  
IMPORTÂNCIA DA DIFERENCIAÇÃO DE MÉTODOS  
DIAGNÓSTICOS DE ESPÉCIES IMUNOLÓGICAS E HORMONAIS**

**NITERÓI**

**2013**



**LIA RAFAELLA**

BALLARD KUHNERT

TIREOIDITE DE HASHIMOTO, ASPECTOS FUNDAMENTAIS E  
IMPORTÂNCIA DA DIFERENCIAÇÃO DE MÉTODOS  
DIAGNÓSTICOS DE ESPÉCIES IMUNOLÓGICAS E HORMONAIS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Biomedicina da Universidade  
Federal Fluminense, como requisito  
parcial para obtenção do Grau de  
Bacharel em Biomedicina. Área de  
Concentração: Análises Clínicas.

Orientador: Prof. PAULO TRAVASSOS NETO

Niterói

2013

LIA RAFAELLA BALLARD KUHNERT

TIREOIDITE DE HASHIMOTO, ASPECTOS FUNDAMENTAIS E IMPORTÂNCIA DA  
DIFERENCIAÇÃO DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE ESPÉCIES IMUNOLÓGICAS  
E HORMONAIS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Biomedicina da Universidade Federal  
Fluminense, como requisito parcial para  
obtenção do Grau de Bacharel em  
Biomedicina. Área de Concentração:  
Análises Clínicas.

Aprovada em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Me. Paulo Travassos Neto – Orientador

UFF

---

Pós-Dr. Adriana Carvalho dos Santos

IOC/Fiocruz

---

Prof. Postdoc Luciene de Carvalho Cardoso Weide

UFF

---

Prof. Dra. Patricia de Fátima Lopes de Andrade  
UFF (membro suplente)

Niterói

2013

"A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável."

(Galileu Galilei)

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus, pois sem sua benção nada disso seria possível.

A meus pais e irmã, obrigada pelo apoio que me foi dado durante todos esses anos de estudo, e pela compreensão do quanto isso significa para mim. A meus avós, por me ajudar a conseguir atingir meu objetivo. A tia Christina, por me incentivar a seguir adiante. Obrigada a todos vocês por acreditarem em mim, amo vocês!

A meu orientador de monografia Paulo, obrigada pela amizade e conhecimento a mim confiados. A minha orientadora de pesquisa Carla, obrigada por me ajudar a ser uma profissional melhor. A todos os amigos que tive o prazer de trabalhar no Laboratório de Patologia Experimental obrigada, em especial a Adriana, Joyce, Nina e Amanda, sem vocês meus dias de trabalho seriam sem graça.

Aos coordenadores do curso de Biomedicina, Ronald e Claudia, obrigada por confiar em nós, alunos, para ajudar nos projetos do curso e poder divulgar para o mundo o que é a Biomedicina. Pagar mico em nome do meu curso é um prazer quando vocês pedem. Aos amigos do Diretório Acadêmico Jussara Pereira, foi um prazer imenso crescer ao lado de vocês, obrigada por esses 3 anos de muito trabalho.

Aos meus amigos de vida toda e meus presentes dados pela uff, obrigada pelo apoio nos momentos mais difíceis, por compreender meus sumiços ao longo do curso, pelo carinho e amizade a mim retribuídos.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho, obrigada!

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	x
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
1.1. MORFOLOGIA DA GLÂNDULA TIREOIDE .....	01
1.1.1. Embriologia da Glândula Tireoide .....	01
1.1.2. Anatomia da Glândula Tireoide .....	01
1.1.3. Histologia da Glândula Tireoide .....	02
1.2. HORMÔNIOS TIREOIDIANOS .....	03
1.2.1. Tiroxina (T4) e Triiodotironina (T3) .....	05
1.2.2. Metabolismo e Fisiologia dos Hormônios Tireoidianos.....	06
1.2.3. Biossíntese de T3 e T4 .....	07
1.2.3.1. Organificação do Iodo .....	07
1.2.3.2. Proteólise da tireoglobulina e liberação de T3 e T4 .....	09
1.2.4. Controle da Secreção de T3 e T4 .....	10
1.2.5. Transporte dos Hormônios Tireoidianos .....	13
1.2.6. Mecanismo de Ação dos Hormônios Tireoidianos.....	14
1.2.6.1. Mecanismo Molecular .....	14
1.2.6.2. Mecanismo Fisiológico .....	15
1.2.7. Catabolismo dos Hormônios Tireoidianos .....	16
1.3. AUTOIMUNIDADE .....	17
1.4. TIREOIDITE DE HASHIMOTO .....	19
1.4.1. Patologia .....	20
1.4.2. Patogênese .....	21
1.4.3. Incidência e Distribuição .....	23
1.4.4. Curso da doença .....	23
1.4.5. Diagnóstico .....	24
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	27
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO .....	27
<b>3. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>28</b>
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>29</b>
4.1. TESTES QUE DETERMINAM A CONCENTRAÇÃO DE HORMÔNIOS NO SANGUE .....	29
4.1.1. Imunoensaio usando Marcadores Isotópicos .....	30

<b>4.1.2. Imunoensaio usando Marcadores Não Isotópicos</b> .....	30
4.2. TESTES QUE AVALIAM O EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-TIREOIDE .....	31
4.3. TESTES QUE DETERMINAM OS AUTOANTICORPOS TIREOIDIANOS .....	31
<b>4.3.1. Hemaglutinação</b> .....	31
<b>4.3.2. Ensaio Imuno-Radiométrico</b> .....	32
4.4. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DAS POPULAÇÕES CELULARES.....	32
<b>4.4.1. Citometria de Fluxo</b> .....	32
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	38
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	39

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Localização anatômica da glândula tireoide .....	02
Figura 02: Microscopia ótica da glândula tireoide .....	03
Figura 03: Estrutura dos hormônios tireoidianos e compostos relacionados .....	04
Figura 04: Esquema representando a organificação do iodo na membrana apical da célula folicular tireoidiana .....	09
Figura 05: Desenho esquemático do feedback negativo sobre o eixo Hipófise-Hipotálamo-Tireoide .....	11
Figura 06: Mecanismo de autotolerância .....	17
Figura 07: Tolerância central e periférica a antígenos próprios .....	19
Figura 08: Dr. Hakaru Hashimoto .....	20



## LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Correlação entre T3 e T4 .....	05
Tabela 02: Recomendação diária de ingestão de iodo .....	06
Tabela 03: Efeitos da deficiência (hipotireoidismo) e excesso (hipertireoidismo) de T3 e T4 no organismo .....	16
Tabela 04: Apresentações de Tireoidite de Hashimoto .....	23
Tabela 05: Orientação para o diagnóstico de tireoidite de Hashimoto .....	25
Tabela 06: Valores de Referência dos hormônios tireoidianos e auto anticorpos .....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

µg – Micrograma

AMPc – Adenosina Monofosfato Cíclico

Anti-Tg – Autoanticorpos anti-Tireoglobulina

Anti-TPO – Autoanticorpos anti-Tireoperoxidase

ATA – American Thyroid Association

BCR – Receptores de Células B

CLIA – Imunoensaio por Quimioluminescência

DAT – Doença Autoimune da Tireoide

DDI – Distúrbios por Deficiência de Iodo

DG – Doença de Graves

DIT – Diiodotirosina

dL – Decilitro

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EIA – Enzima Imunoensaio

ELISA – Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima

FPIA – Imunoensaio por Fluorescência Polarizada

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

FTI – Índice de Tiroxina Livre

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peróxido de Hidrogênio

hCG – Gonadotrofina Coriônica

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

HT – Hormônio Tireoidiano

Γ – Iodeto

ICCIDD – International Council for the Control Iodine Deficiency

IgG – Imunoglobulina G

IMAs – Imunoensaios Competitivos

IRMA – Ensaio Imuno-Radiométrico

LH – Hormônio Luteinizante

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

MIT – Monoiodotirosina

mm – Milímetro

Na<sup>+</sup> – Íon Sódio

NADPH – Nicotinamida Adenosina Dinucleotídeo Fosfato

ng – Nanograma

NIS – Co-transportador sódio-iodeto

NK – Células Natural Killer

PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina

PDS – Pendrina

pg – Picograma

PKA – Proteína Cinase A

RIA – Radioimunoensaio

RNA – Ácido Ribonucleico

rT3 – T3 Reverso

SNC – Sistema Nervoso Central

T3 – Triiodotironina

T4 – Tiroxina

T4L – T4 Livre

TA – Tireoidite Autoimune

TBG – Globulina Ligadora de Tiroxina

TBPA – Pré-albumina Ligadora de Tiroxina ou Transtirretina

TCD4<sup>+</sup> – Células T auxiliares ou T helper

TCR – Receptores de Células T

TETRAC – Produtos Tiroacéticos

Tg – Tireoglobulina

ThOX – NADPH Oxidase Tireóidea

TPO – Tireoperoxidase

TR – Receptor do Hormônio Tireoidiano

Treg – Células T Reguladoras

TRH – Hormônio Liberador de Tireotrofina

TSH – Tireotrofina

TSHR – Receptor de TSH

Tyr – Tirocila

UNICEF – Fundo das Nações Unidas para a Infância

WHO – World Health Organization (OMS)

Zn – Zinco

## RESUMO

Os hormônios tireoidianos desempenham função importante no crescimento, desenvolvimento e metabolismo de todos os vertebrados. A concentração sérica dos mesmos é controlada pelo TRH, somatostatina e TSH, os quais determinam a taxa de biossíntese e secreção hormonal, bem como por desidases, enzimas que geram, nos tecidos periféricos, T3 a partir do T4 circulante. Os efeitos biológicos dos hormônios tireoidianos são desencadeados por meio da sua interação com receptores nucleares. A Tireoidite de Hashimoto é o tipo mais comum de tireoidite e uma das mais comuns doenças endocrinológicas e frequentemente esta associada ao hipotireoidismo. A doença geralmente apresenta-se sem dor, com aumento da glândula tireoide, e atinge principalmente mulheres jovens ou de meia idade. É uma doença de natureza autoimune que tem como alvo a própria glândula. O desenvolvimento tecnológico tem introduzido novas técnicas diagnósticas com grande sensibilidade e especificidade. Utilizando assim imunoensaios para a determinação da concentração de hormônios tireoidianos no sangue, autoanticorpos e avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, aumentando assim a acurácia do diagnóstico e a frequência entre as doenças tireoidianas.

**Palavras-Chave:** Glândula Tireoide; Hormônios Tireoidianos; Tireoidite de Hashimoto; Técnicas diagnósticas.

## **ABSTRACT**

Thyroid hormones play an important role in growth, development and metabolism of all vertebrates. The serum concentration of them is controlled by TRH, TSH and somatostatin, which determine the rate of biosynthesis and hormone secretion as well as by deiodinases, enzymes that generate T3 from circulating T4, in peripheral tissues. The biological effects of thyroid hormones are triggered by its interaction with nuclear receptors. The Hashimoto's thyroiditis is the most common type of thyroiditis and one of the most common endocrine diseases and it is frequently associated with hypothyroidism. This disease usually presents without pain, with an increase of the thyroid gland and affects mainly young or middle-aged women. It is an autoimmune disease that has the gland as its target. Technological development has introduced new diagnostic techniques with high sensitivity and specificity. Thereby using immunoassays for determining the concentration of thyroid hormones in the blood, autoantibodies and evaluation of the hypothalamic-pituitary-thyroid, thus increasing the accuracy of diagnosis and frequency between thyroid diseases.

**Keywords:** Thyroid Gland, Thyroid Hormones, Hashimoto's thyroiditis; diagnostic techniques.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Morfologia da Glândula Tireoide

### 1.1.1. Embriologia da Glândula Tireoide

A tireoide é a primeira glândula endócrina a aparecer durante o desenvolvimento embrionário. Ela começa a se desenvolver aproximadamente 24 dias após a fertilização a partir de um espessamento endodérmico mediano no assoalho da faringe primitiva, em posição imediatamente caudal ao futuro local do brotamento lingual mediano. Esse espessamento logo forma uma proliferação em direção inferior conhecida como divertículo tireóideo <sup>(47)</sup>.

À medida que o embrião se alonga e a língua cresce, a tireoide em desenvolvimento desce para o pescoço, passando ventralmente ao osso hioide em desenvolvimento e pelas cartilagens da laringe. Ela se conecta a língua por um estreito canal, o ducto tiroglossal, sua abertura na língua é chamada *foramen cecum* <sup>(47)</sup>.

O divertículo tireóideo cresce rapidamente e divide-se em dois lobos. Os lobos direito e esquerdo são ligados por um istmo que repousa na face anterior dos segundo e terceiro anéis traqueais. Pela sétima semana, a glândula tireoide, em geral, já atingiu sua posição final na porção inferior do pescoço <sup>(47)</sup>.

### 1.1.2. Anatomia da Glândula Tireoide

A glândula tireoide se situa profunda aos músculos esternotireóideo e esterno-hioideo, ao nível das vertebrae C5 a T1. Consiste em dois lobos, direito e esquerdo, que medem aproximadamente de 2 a 2,5 cm de espessura e de largura no seu diâmetro maior de 2,5 a 4 cm de comprimento anterolateral à laringe e traqueia. Um istmo une os lobos na frente da traqueia, normalmente anterior ao 2º e 3º anéis da traqueia, mede cerca de 2 cm de largura e altura e 0,5 cm de espessura. A glândula tireoide é circundada por uma fina capsula fibrosa, que envia septos profundamente para a glândula. Tecido conectivo denso fixa a capsula da glândula tireoide à cartilagem cricóide e aos anéis superiores da traqueia <sup>(9,17)</sup>.

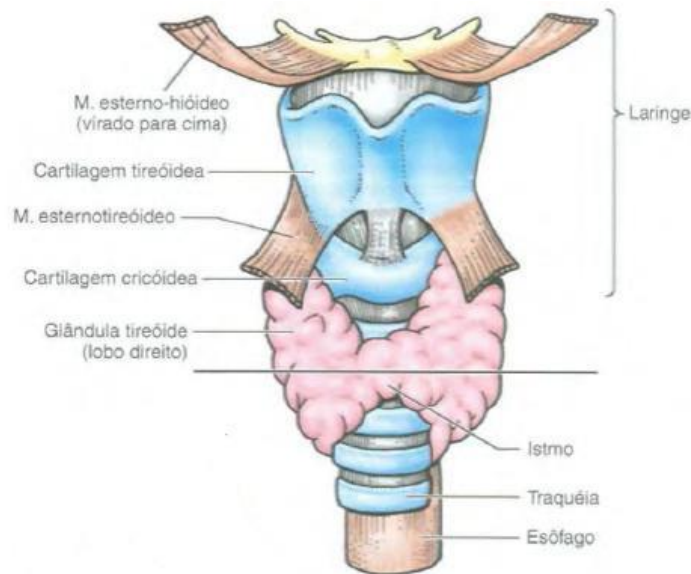


Figura 01: Localização anatômica da glândula tireoide. Glândula tireoide normal mostrando sua relação com a traqueia, esôfago e a cartilagem cricóidea. Os músculos esternotireóideos foram seccionados para expor os lobos da glândula. (Modificada de ANATOMIA ORIENTADA PARA A CLÍNICA, 4ª Ed.).

Os lobos são constituídos de estruturas esféricas denominadas foliculos, que são células epiteliais arranjadas sobre uma membrana base, circundando um material amorfo denominado coloide. O folículo é a unidade funcional da tireoide <sup>(9)</sup>.

### 1.1.3. Histologia da Glândula Tireoide

A tireoide é composta de milhares de foliculos tireoidianos, que medem no homem aproximadamente 0,2 a 0,9 mm de diâmetro. Os foliculos são formados por epitélio simples e sua cavidade contém uma substancia gelatinosa chamada coloide (agregado de tireoglobulinas (Tg) iodadas). Em cortes, as células dos foliculos variam de achatadas a colunares e os foliculos mostram diâmetros variados <sup>(46)</sup>.

A glândula é coberta por uma capsula de tecido conjuntivo frouxo que envia septos para o parênquima. Estes septos se tornam gradualmente mais delgados ao alcançar os foliculos, que são separados entre si principalmente por fibras reticulares. A tireoide é um órgão extremamente vascularizado por uma extensa rede capilar sanguínea e linfática que cerca os foliculos. As



células endoteliais desses vasos capilares são fenestradas, como é comum em outras glândulas endócrinas. Esta configuração facilita o transporte de substâncias entre as células endócrinas e o sangue <sup>(46)</sup>.

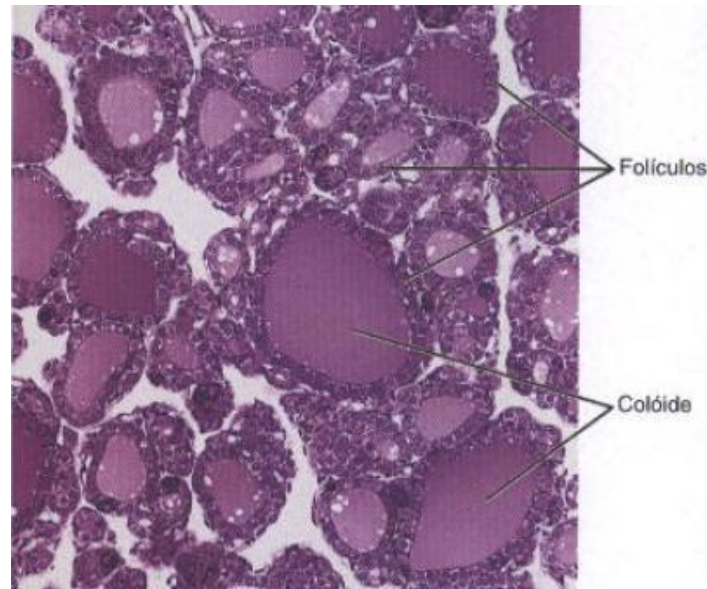


Figura 02: Microscopia ótica da glândula tireoide. (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 10 Ed.).

A Tg é a principal proteína produzida pela Tireoide, correspondendo de 70 a 80% do conteúdo proteico da glândula, sintetizada no retículo endoplasmático e exportada para a luz folicular. Quando iodada serve de suporte para a biossíntese dos hormônios tireoidianos (HT), T3 e T4, e seus precursores moniodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT). O iodo é incorporado em regiões específicas da Tg – resíduos tirosil hormogênicos – e a proteína é clivada após endocitose, permitindo a liberação dos HT formados <sup>(8,9)</sup>.

## 1.2. Hormônios Tireoidianos

Os HT são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento de vários órgãos e tecidos de vertebrados. Embora essa ação já ocorra no período embrionário, alguns desses órgãos e tecidos ainda são imaturos ao nascimento e têm um padrão de desenvolvimento temporal específico, o qual depende de um aporte adequado de T3, o principal hormônio tireoidiano. Dele também depende o crescimento, a diferenciação e a regulação da atividade e

metabolismo desses mesmos órgãos e tecidos na vida adulta, razões pelas quais os HT são considerados essenciais para a preservação da qualidade de vida (7,10).

Desta forma, para a manutenção da atividade normal dos tecidos-alvo, níveis intracelulares adequados de T3 devem ser garantidos, o que está na dependência não só da atividade tireoidiana como também da geração intracelular deste hormônio, processos que dependem, respectivamente, da integridade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide e da atividade de enzimas específicas, as desidases (7,10).

A secreção tireoidiana compreende os seguintes compostos:

- T4, Tiroxina ou 3,5,3',5'-L-Tetraiodotironina;
- T3, Triiodotironina ou 3,5,3'-L-Triiodotironina;
- Pequenas quantidades de T3 Reverso (rT3) ou 3,3',5'-L-Triiodotironina, um hormônio biologicamente inativo;
- Quantidades diminutas de MIT (Monoiodotirosina) e DIT (Diiodotirosina), que são precursores de T3 e T4;
- Calcitonina, um hormônio polipeptídico de ação no metabolismo do cálcio (9).

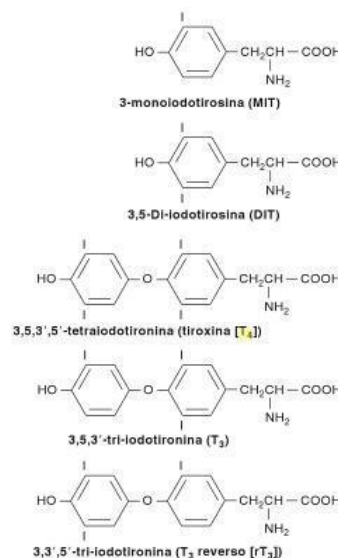


Figura 03: Estrutura dos hormônios tireoidianos e compostos relacionados. (HARPER'S BIOCHEMISTRY, 24 th ed.).

### 1.2.1. Tiroxina (T4) e Triiodotironina (T3)

Cerca de 90% do hormônio secretado pela glândula tireoide consistem em T4, e 10% em T3. Todavia, a maior parte da tiroxina é eventualmente convertida por desidases em T3 nos tecidos (80%), de modo que ambos os hormônios são importantes do ponto de vista funcional. As funções desses dois hormônios são qualitativamente idênticas, porém eles diferem na rapidez e intensidade de sua ação, o T3 apresenta uma potencia biológica muito grande, no mínimo 5 vezes maior do que o T4. Além de originar o T3 ativo, o T4 pode também dar origem a uma forma de T3 inativo, chamado de T3 Reverso (rT3), quando a sua desidiação ocorre no anel interno da tirosina <sup>(7,9,18)</sup>.

Ao serem liberados no sangue, todo o T4 e T3, à exceção de uma quantidade diminuta, combinam-se imediatamente a várias proteínas plasmáticas. A afinidade de ligação às proteínas plasmáticas é mais de 6 vezes maior para a T4 do que para T3. Essa diferença, somada ao fato de a concentração plasmática de T4 ser consideravelmente maior do que T3 faz com que a quantidade total de T4 ligada à proteína seja cerca de 60 vezes maior do que a da T3 ligada à proteína <sup>(18)</sup>.

Tabela 01: Correlação entre T3 e T4.

	<b>T3 (Triiodotironina)</b>	<b>T4 (Tiroxina)</b>
<b>Concentração Sérica Total</b>	70 – 210 ng/dL	4,5 – 12,5 µg/dL
<b>Concentração Sérica Livre</b>	T3L = 200 – 420 pg/dL	T4L= 0,8 – 1,9 ng/dL
<b>% Ligada à proteína</b>	99,5 – 99,8%	99,95 – 99,97%
<b>% Livre</b>	0,2 – 0,5%	0,03 – 0,05%
<b>Meia vida</b>	1,5 – 3 dias	7 – 9 dias
<b>Produção diária</b>	30 µg/dia	80 µg/dia
<b>Transporte</b>	TBG ~100% TBPA (muito pouco)	TBG~70% TBPA~10%

		Albumina ~15%
<b>Ligação ao receptor celular</b>	O T3 tem uma afinidade pelos receptores celulares de 10 a 20 vezes maior que o T4.	
<b>Potência biológica</b>	O T3 tem potência biológica 5 vezes superior à do T4.	
<b>Ligação com TBG</b>	O T4 tem uma afinidade por TBG 10 vezes maior que o T3.	

Fonte: Modificado de LOPES, 2002.

### 1.2.2. Metabolismo e Fisiologia dos Hormônios Tireoidianos

O iodo é o elemento essencial à biossíntese dos hormônios da tireoide. A ingestão diária deste elemento vem dos alimentos e da água, e considera-se como ideal para o homem uma ingestão de 150 a 300 µg/dia. Valores muito abaixo do desejado podem ocasionar Distúrbios por Deficiência de Iodo (DDI), podendo causar cretinismo em crianças, anomalias congênitas, bem como a manifestação clínica mais visível, o bócio. Em muitos países é comum a adição de iodo ao sal de cozinha para se evitar o aparecimento de DDI na população. No Brasil a adição de iodo ao sal de cozinha já é uma realidade desde 1953, quando esta ação virou lei (Lei 1944/53). A legislação atual do Ministério da Saúde estabelece que todo o sal comercial tem que receber uma suplementação de pelo menos 40 miligramas de iodo por quilo de cloreto de sódio (sal de cozinha) (8,9,18,18,20).

Tabela 02: Recomendação diária de ingestão de iodo (ICCIDD, WHO e UNICEF).

<b>Categoria</b>	<b>Iodo (µg/dia)</b>
Recém-nascido e crianças	90 – 120
Idade escolar e adolescência	120 – 150
Adulto	150
Gravidez e lactação	200 – 300

Fonte: <http://www.tireoide.org.br/campanha-contra-carencia-de-iodo/>, acessado em 26 de Set. 2013.

### 1.2.3. Biossíntese de T3 e T4.

#### 1.2.3.1. Organificação do Iodo

A biossíntese dos hormônios da tireoide depende do funcionamento normal de uma série de proteínas que são necessárias tanto para a captação de iodeto através da membrana basolateral dos tireócitos como para sua incorporação à proteína aceptora, a Tireoglobulina (Tg), o que ocorre na superfície apical da célula folicular <sup>(8)</sup>.

Os tireócitos são capazes de captar iodeto ( $I^-$ ) do plasma, através da sua membrana basolateral contra o gradiente eletroquímico. O iodo entra na célula folicular tireóidea como  $I^-$ , sendo transportado junto com o sódio ( $Na^+$ ) por uma proteína transportadora de membrana, o co-transportador Sódio-iodeto (NIS). A atividade do NIS é eletrogênica e dependente do gradiente de  $Na^+$  gerado pela bomba  $Na^+/K^+$  ATPase, a estequiometria do co-transporte realizado pelo NIS é de 2  $Na^+$ : 1  $I^-$ . Como o interior da célula mantém um potencial elétrico negativo em relação ao interstício e à luz folicular, o iodeto é transportado para dentro da célula contra este potencial eletronegativo, mas a favor do gradiente eletroquímico gerado pelo  $Na^+$ . Portanto, a atividade do NIS está intimamente relacionada à bomba  $Na^+/K^+$  ATPase <sup>(8)</sup>.

Desta maneira, a captação de iodeto pela célula folicular ocorre por um mecanismo de transporte ativo secundário <sup>(21)</sup>. O transporte de iodeto através do NIS é estimulado pelo hormônio adeno-hipofisário tireotrofina (TSH). Além da concentração sérica de TSH, o transporte de iodeto é também regulado pelo mecanismo de auto regulação do tireócito, no qual a atividade do NIS varia inversamente com o conteúdo glandular de iodo <sup>(22)</sup>.

No interior celular, o  $I^-$  se difunde, segundo gradiente eletroquímico, em direção ao espaço luminal. Este é transportado através da membrana apical da célula folicular pela pendrina (PDS) e subseqüentemente incorporado à Tg <sup>(8)</sup>.

**TIREOGLOBULINA.** A Tg é a principal proteína produzida pela tireoide, correspondendo a 70-80% do conteúdo proteico da glândula, sintetizada no retículo endoplasmático e exportada para a luz folicular. É uma glicoproteína dimérica de 660kDa e coeficiente de sedimentação de 19 S, quando normalmente iodada, serve de suporte para a biossíntese dos hormônios tireóideos <sup>(56)</sup>. O iodo é incorporado em regiões específicas da Tg - resíduos

tirosil hormonogênicos - e a proteína é clivada após endocitose, permitindo a liberação dos hormônios tireóideos formados <sup>(24,25,26)</sup>.

**TIREOPEROXIDASE.** A TPO é uma hemoglicoproteína com 933 aminoácidos e peso molecular de 103kDa, que se encontra na membrana plasmática apical da célula folicular com o seu domínio catalítico voltado para o coloide <sup>(24,79)</sup>. A proteína está distribuída em diferentes localizações subcelulares, como retículo endoplasmático, aparelho de Golgi e vesículas próximas à membrana apical da célula folicular, na interface citoplasma-coloide. A expressão da TPO é controlada pelo TSH através de um sistema dependente de 3', 5'-adenosina monofosfato cíclico (AMPC)/proteína cinase A (PKA) <sup>(27)</sup>.

A TPO é o principal componente do antígeno microsomal que corresponde ao alvo dos auto anticorpos presentes na tireoidite autoimune, causando destruição da glândula, particularmente na tireoidite de Hashimoto <sup>(28)</sup>.

Atualmente, acredita-se que a TPO seja responsável pela catálise de 3 reações da biossíntese hormonal: a oxidação de íons  $\Gamma$ , a iodação da tireoglobulina e o acoplamento de iodotirosinas, formando iodotironinas <sup>(24,25)</sup>.

Foi proposta a existência de dois sítios catalíticos na TPO, um para ligar-se ao  $\Gamma$  e outro para ligar-se à tirosina, aminoácido presente na tireoglobulina. Esses dois substratos irão sofrer oxidação pela TPO, produzindo radicais livres a partir do  $\Gamma$  e da tirosila (Tyr), que se ligam formando monoiodotirosina (MIT). A MIT, ainda ligada à TPO, pode sofrer nova oxidação e reagir com outro radical do  $\Gamma$ , produzindo diiodotirosina (DIT). As iodotirosinas formadas são acopladas, formando os hormônios tireóideos T4 ou T3 <sup>(24,25)</sup>.

MIT + DIT = T3

DIT + DIT = T4

**SISTEMA GERADOR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO.** O  $H_2O_2$  é essencial nas reações catalisadas pela TPO, agindo como cofator enzimático na reação de oxidação do  $\Gamma$ . A geração de  $H_2O_2$  foi detectada na região apical da célula folicular tireóidea, e mostrou-se dependente de NADPH. Além disto, foi demonstrado que o aumento da produção de  $H_2O_2$  na tireoide parece ser mediado, pelo menos em algumas espécies, pelo aumento dos níveis de cálcio

intracelular <sup>(29)</sup>. A enzima, denominada NADPH oxidase tireóidea (ThOx), encontra-se nas frações microssomais e na membrana citoplasmática de tireóides <sup>(30,31)</sup>.

Nos últimos anos, mostrou-se que a indução da geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em culturas primárias de tireócitos caninos era modulada pelo hormônio tireotrófico (TSH) <sup>(32)</sup>, e que a atividade da ThOx era induzida por TSH, assim como a Tg e a TPO. Além disto, assim como ocorre na regulação da expressão da TPO e da Tg, os efeitos do TSH sobre a atividade da ThOx são dependentes de síntese proteica e reproduzidos por análogos do AMPc <sup>(33)</sup>. Esses dados foram fundamentais para que a ThOx fosse finalmente considerada a enzima responsável pela geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sendo de extrema relevância para a biossíntese dos hormônios tireóideos, assim como da TPO, Tg e  $\Gamma$  <sup>(8)</sup>.

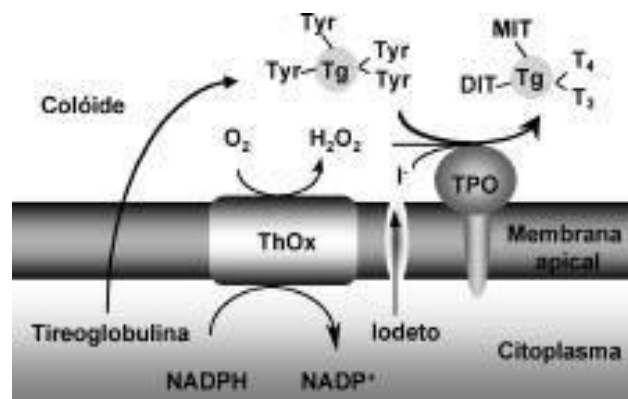


Figura 04: Esquema representando a organificação do iodo na membrana apical da célula folicular tireoideana. (VAISMAN, ROSENTHAL & CARVALHO, 2004)

#### 1.2.3.2. Proteólise da Tireoglobulina e liberação de T3 e T4.

Quando há uma demanda metabólica, os hormônios T3 e T4 produzidos pelos foliculos tireoidianos e armazenados no coloide são transportados novamente para o citoplasma folicular ainda ligado à Tg, onde por ação de enzimas proteolíticas lisossomais são liberados para a corrente sanguínea <sup>(9)</sup>.

A ação do TSH na secreção dos HT processa-se através da ativação da adenilciclase na formação do AMPc. Juntamente com os hormônios T3 e T4, as moléculas de MIT e DIT são também liberadas no citoplasma folicular,

sendo deionizadas por ação de dehalogenases microsossomais. O  $\Gamma$  liberado é reutilizado pela glândula para a síntese dos seus hormônios <sup>(9)</sup>.

#### 1.2.4. Controle da Secreção de T3 e T4.

A biossíntese e a liberação de T3 e T4 são controladas por mecanismos reguladores tipo feedback negativo que mantêm constante a síntese, o estoque e os níveis dos hormônios no sangue. O controle da secreção dos hormônios tireoidianos envolve as seguintes etapas:

- a) Quanto há uma diminuição dos níveis de T3 e T4 na circulação sanguínea, os estímulos vagais em nível do hipotálamo causam a liberação do TRH (Hormônio Liberador de Tireotrofina).
- b) O TRH liberado pelo hipotálamo estimula a hipófise na liberação do TSH.
- c) O TSH liberado pela hipófise através da ação do TRH hipotalâmico se liga a um receptor na membrana da célula tireoidiana ativando a adenilciclase e, conseqüentemente, quase todas as etapas da biossíntese de T3 e T4 serão ativadas. O TSH é, portanto, o principal regulador da função tireoidiana. As principais ações do TSH na tireoide são:
  - Aumentam o tamanho e o número de células foliculares
  - Ativar a captação de iodeto para dentro da glândula
  - Ativar a síntese de Tg pelos folículos
  - Estimular a ação das TPOs nas etapas de oxidação e acoplamento
  - Regular a velocidade da proteólise enzimática da Tg para a liberação de T3 e T4 na corrente sanguínea.
- d) Os HT produzidos caem na corrente circulatória e, por mecanismo de feedback negativo, inibem a ação do TSH na hipófise. A diminuição da concentração sérica de T3 ou T4 leva a aumento na síntese e secreção de TSH, pois tanto o T3 sérico quanto o formado na hipófise ou hipotálamo pela conversão de T4 a T3 inibem a síntese e secreção de TSH ou TRH <sup>(25)</sup>. Existe uma relação linear entre as concentrações séricas de T4 e o logaritmo das concentrações séricas de TSH <sup>(35)</sup>. Portanto, as concentrações séricas de TSH



podem ser utilizadas como um bom índice do estado tireoidiano nos seres humanos <sup>(40)</sup>.

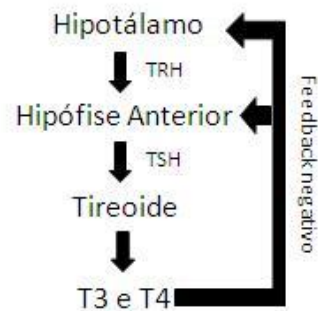


Figura 05: Desenho esquemático do feedback negativo sobre o eixo Hipófise-Hipotálamo-Tireoide.

Os HTs regulam diferentes etapas da síntese e secreção de TSH. A inibição da síntese de TSH pelos HTs resulta da diminuição dos níveis de RNA mensageiro para as subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  do hormônio por diminuição da transcrição de seus genes <sup>(36)</sup>. Os HTs atuam, também, na resposta secretória do TSH ao TRH, estando esta aumentada no hipotireoidismo <sup>(9,37)</sup>.

Outra forma dos HTs regularem a ação do TRH é através do estímulo à síntese da ectoenzima que causa degradação do TRH. Os hormônios tireóideos aumentam os níveis de RNAm para esta enzima presente nas membranas de células adenohipofisárias <sup>(38)</sup>. Portanto, os HTs modulam o número de receptores para TRH nos tireotrofos e a degradação local do TRH, regulando, assim, a resposta hipofisária a este hormônio <sup>(40)</sup>.

Além da atuação hipofisária, os HTs atuam no hipotálamo inibindo a síntese de TRH no núcleo paraventricular <sup>(37)</sup>. Outro ponto de regulação hipotalâmica pelos HTs é o controle da somatostatina, um inibidor fisiológico da secreção de TSH <sup>(39)</sup>. A secreção dos HT pode também ser estimulada ou bloqueada por ação de auto anticorpos de receptores do TSH (TSHR) <sup>(9)</sup>.

**HORMONIO LIBERADOR DE TIREOTROFINA.** O TRH é um tripeptídeo piroglutamil-histidil-prolinamida, processado a partir de um grande precursor, o prépro-TRH, cuja estrutura é bastante conservada em mamíferos. O processamento e a clivagem do prépro-TRH dão origem a vários peptídeos, entre eles o TRH <sup>(40)</sup>.

O TRH responsável pelo estímulo à síntese e secreção do TSH é produzido por neurônios parvocelulares situados nos núcleos paraventriculares do hipotálamo médio basal. Estes neurônios se projetam até a eminência média, onde o TRH é liberado em capilares do sistema porta-hipofisário, através do qual chega à adeno-hipófise <sup>(25)</sup>.

A meia-vida plasmática do TRH é muito curta, variando, aproximadamente, de 2 a 6 minutos em estados de hiper ou hipotireoidismo, respectivamente, uma vez que é rapidamente degradado nos tecidos alvos e no sangue pela enzima piroglutamil aminopeptidase, que é altamente específica para o TRH. A atividade desta enzima na hipófise anterior é estimulada pelos HTs <sup>(38)</sup>. Na adeno-hipófise, o TRH atua através de receptores específicos na membrana plasmática <sup>(40)</sup>.

**TIREOTROFINA.** O TSH é produzido na adenohipófise em células denominadas tireotrofos. É um hormônio glicoproteico com peso molecular de 28 kDa, constituído por duas subunidades, as cadeias polipeptídicas  $\alpha$  e  $\beta$ . A subunidade  $\alpha$  é produzida em maior quantidade que o TSH, sendo, portanto, a subunidade  $\beta$  que limita esta produção. Enquanto a subunidade  $\alpha$  é comum ao hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e à gonadotrofina coriônica (hCG), a subunidade  $\beta$  do TSH é específica, sendo responsável pela especificidade imunológica e biológica deste hormônio <sup>(34)</sup>.

O TSH é glicosilado, e isto lhe confere uma proteção em relação à degradação intracelular, além de permitir que o mesmo se dobre adequadamente para permitir a formação de pontes dissulfeto, desta forma, a glicosilação é importante para o efeito biológico do TSH <sup>(25)</sup>.

A secreção de TSH é pulsátil e circadiana. A secreção pulsátil é caracterizada por flutuações no intervalo de 1 a 2 horas. Porém, devido à baixa amplitude destas secreções e ao fato de que a sua meia-vida é relativamente longa (30 a 50 minutos), as concentrações séricas de TSH variam muito pouco <sup>(25)</sup>. A variação circadiana é caracterizada por um pico noturno que precede o início do sono e parece ser dependente do ritmo do cortisol e das flutuações dos HTs <sup>(40)</sup>.

### 1.2.5. Transporte dos Hormônios Tireoidianos

Ambos os HT são transportados na circulação sanguínea ligados a proteínas plasmáticas, apenas 0,03% do T4 e 0,3% do T3 não estão ligados a proteínas, ou seja, estão livres e, conseqüentemente, disponíveis para a penetração e ação nos tecidos-alvos. Existem três proteínas de transporte dos HT de maior importância: a TBG (Globulina Ligadora de Tiroxina); a Transtirretina ou TBPA (Pré-Albumina Ligadora de Tiroxina) e a Albumina. A ligação a proteínas no plasma permite o fornecimento sanguíneo das iodotironinas, as quais são pouco solúveis em água. Ela também cria uma grande reserva de HT circulante com uma meia vida plasmática estável por sete dias, assegurando a distribuição homogênea dos HT nos tecidos alvos <sup>(7)</sup>.

**TBG.** É uma glicoproteína produzida pelo fígado e membro da família SERPIN de antiproteases serinas compostas por uma cadeia única de polipeptídeos de 54 kDa, aos quais estão ligadas quatro cadeias de carboidratos contendo normalmente cerca de dez resíduos de ácido siálico. Cada molécula de TBG possui um único local de ligação para o T4 ou T3. A concentração sérica de TBG é entre 15-30 mg/mL (280 a 560 mmol/L), e sua alta afinidade ligadora pelo T4 ou T3 permite transportar aproximadamente 70% dos HT circulantes <sup>(7,9)</sup>.

**TRANSTIRRETINA.** A transtirretina é um polipeptídeo globular de 55 kDa composto por quatro subunidades idênticas de 127 aminoácidos, e liga 10% do T4 circulante. Sua afinidade pelo T4 é dez vezes maior que pelo T3. A dissociação dos HT da transtirretina é rápida, de modo que ela é uma fonte de T4 rapidamente disponível <sup>(7)</sup>.

**ALBUMINA.** A albumina liga-se ao T4 e T3 com baixa afinidade em comparação as outras proteínas plasmáticas acima, porém, suas altas concentrações plasmáticas resultam do transporte de 15% do T4 e do T3 circulantes. As taxas de dissociação rápidas dos HT da albumina a torna grande fonte de hormônio livre para os tecidos <sup>(7)</sup>.

É a concentração da forma livre dos hormônios que determina o estado tireoidiano da pessoa, independente da concentração sérica total, uma vez que

essa é a forma do hormônio mantida constante pelo sistema de feedback negativo na regulação de suas secreções pela tireoide <sup>(9)</sup>.

As proteínas transportadoras agem como um sistema tampão, regulando e mantendo normal a concentração dos hormônios livres e também, restringindo as perdas por secreção renal ou catabolismo hepático <sup>(9)</sup>.

#### 1.2.6. Mecanismo de Ação dos Hormônios Tireoidianos

##### 1.2.6.1. Mecanismo Molecular

A ligação dos HT às proteínas plasmáticas aumenta suas meias-vidas e assegura uma distribuição regular do hormônio nos tecidos alvos. A entrada e saída do hormônio nas células ocorre, em uma menor parcela, por difusão passiva, e outra principal através de transportadores específicos que regulam a captação e o efluxo dos HT <sup>(78,79)</sup>. No interior da célula, o T3 liga-se a receptores específicos localizados no núcleo, os receptores do hormônio tireoidiano (TRs). Os TRs medeiam à ação do hormônio ligando-se diretamente na região promotora dos genes alvos, regulando a transcrição em todos os tecidos de mamíferos <sup>(44)</sup>.

**RECEPTORES NUCLEARES.** Os TRs pertencem à superfamília de receptores nucleares que compreende 49 genes que codificam 75 proteínas diferentes, que estão envolvidas na transdução de sinais hormonais extracelulares em respostas transcricionais <sup>(45)</sup>. Eles são produtos da expressão de dois genes localizados no cromossomo 17 e 3, sendo denominados respectivamente de TR  $\alpha$  e  $\beta$ . Por *splicing* alternativo, cada gene gera, pelo menos, duas isoformas de TRs, o TR $\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2, TR $\beta$ 1 e TR $\beta$ 2, cada uma delas apresentando 3 domínios: (a) um domínio independente de ligante, localizado na sua porção aminoterminal, (b) um domínio de ligação ao DNA, que apresenta dois “dedos de zinco” (zinc fingers), formados pela ligação de 4 resíduos de cisteína ao Zn e (c) um domínio de ligação ao ligante (T3), localizado na sua porção carboxi-terminal. Essas isoformas apresentam-se diferencialmente expressas nos diversos tecidos <sup>(41)</sup>.

A interação do T3 com seus receptores nucleares levam, portanto, à ativação ou inibição da expressão desses genes-alvo, o que implica no estímulo ou bloqueio da síntese de proteínas específicas, mecanismo pelo qual

o HT exerce os seus efeitos biológicos nas células. Na verdade, proteínas co-ativadoras e co-repressoras participam ativamente desse processo <sup>(10)</sup>.

Apesar de ser consenso que a ação do HT se dê por ativação/inibição da transcrição de genes específicos, vários dos seus efeitos são observados em tempo extremamente curto (poucos minutos) para justificar uma ação nuclear.

Dessa maneira, as ações que o T3 desencadeia nas suas células alvo repercutem em efeitos biológicos marcantes na atividade dos vários tecidos e sistemas, os quais, em geral, têm sua atividade bastante elevada quando sob a ação deste hormônio, o qual eleva a expressão e a atividade de várias enzimas do metabolismo oxidativo, ATPases, transportadores iônicos e proteínas importantes para o desenvolvimento de várias funções específicas dos mesmos. E, embora esteja muito bem definido que o mecanismo de ação deste hormônio envolva modificações na expressão de genes específicos (ação transcricional), não se pode desprezar o crescente número de relatos na literatura de ações do T3 consideradas não genômicas, ainda que o mecanismo envolvido no estabelecimento desses efeitos não esteja completamente esclarecido <sup>(10,41)</sup>.

#### 1.2.6.2. Mecanismo Fisiológico

Entre suas ações de suporte à vida, os HT promovem o crescimento fetal e infantil normais e o desenvolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC); regulam a frequência cardíaca, a contração e o relaxamento miocárdicos; afetam a motilidade gastrointestinal e a depuração renal; modulam o gasto de energia corporal e a geração de calor; além do metabolismo lipídico e o peso <sup>(7)</sup>.

Estes hormônios podem ter suas concentrações séricas alteradas, estando aumentada no hipertireoidismo e diminuída no hipotireoidismo, essas modificações na secreção hormonal alteram o organismo metabolicamente. Essas modificações estão abaixo na tabela 03.

Tabela 03: Efeitos da deficiência (hipotireoidismo) e excesso (hipertireoidismo) de T3 e T4 no organismo.

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

Fonte: LOPES, 2002.

### 1.2.7. Catabolismo dos Hormônios Tireoidianos

Os HT são inativados através de mecanismos diversos e em locais variados. A principal via do catabolismo do T4 é através da deiodinação para formar T3, rT3, que também sofrerão os mesmos processos de deiodinação para formar DIT e MIT para serem eliminados <sup>(7,9)</sup>.

Outra via catabólica é a deaminação oxidativa da cadeia lateral da alanina com formação de produtos tireoacéticos (TETRAC), análogos ao ácido pirúvico que são convertidos em tireoacetatos por descarboxilação para posterior eliminação na urina <sup>(7,9)</sup>.

Uma terceira via metabólica ocorre no fígado, com a inativação dos hormônios através da conjugação para formar compostos sulfatos e glicuronídeos que pelas vias biliares chegam ao intestino para serem eliminados junto com as fezes <sup>(7,9)</sup>.

### 1.3. Autoimunidade

Autoimunidade é uma falha dos mecanismos normais de autotolerância resultando em reações contra as células e tecidos do próprio organismo. As doenças causadas por autoimunidade são denominadas doenças autoimunes (48,49).

A tolerância imunológica é definida como a não responsividade a um antígeno induzida pela exposição prévia a este antígeno. Quando linfócitos específicos encontram antígenos, eles podem ser ativados iniciando uma resposta imunológica a este antígeno ou essas células podem ficar inativas ou serem eliminadas, levando à tolerância. A tolerância aos antígenos próprios é uma propriedade fundamental do sistema imunológico normal, e a falha da autotolerância leva a doenças autoimunes. A autotolerância pode ser induzida em linfócitos autorreativos imaturos nos órgãos linfoides primários (tolerância central) ou em linfócitos maduros em locais periféricos (tolerância periférica) (48,49).

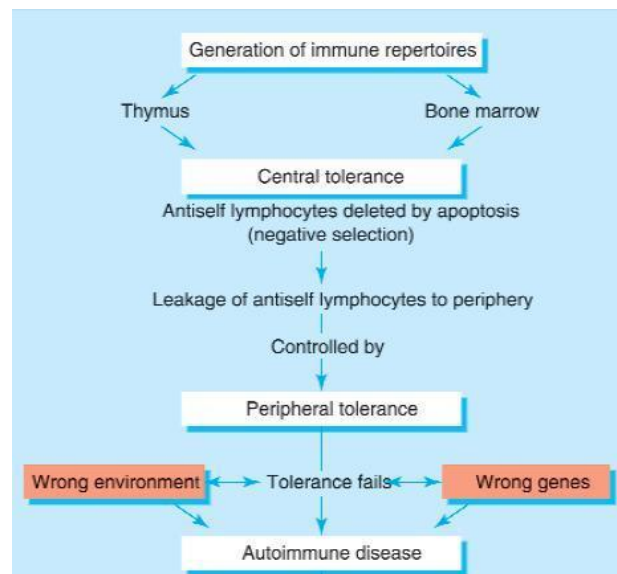


Figura 06: Mecanismo de autotolerância. (Modificado de MACKAY, 2001.).

**TOLERÂNCIA CENTRAL.** A tolerância central ocorre porque, durante a maturação nos órgãos linfoides primários (timo e medula óssea), todos os linfócitos passam por um estágio em que o encontro com o antígeno (normalmente próprio, pois são os únicos antígenos presentes nesses órgãos)

leva à morte celular (deleção clonal) ou expressão de novos receptores a antígenos (normalmente células B imaturas) ou a uma mudança nas capacidades funcionais (diferenciação de células TCD4<sup>+</sup> em células T reguladoras, as quais migram para a periferia e evitam respostas aos antígenos próprios). Tanto a deleção clonal quanto a edição de receptores representam mecanismos de seleção negativa durante o desenvolvimento dos linfócitos <sup>(48)</sup>.

**TOLERÂNCIA PERIFÉRICA.** A tolerância periférica é o mecanismo pelo qual as células T maduras que reconhecem antígenos próprios dos tecidos periféricos (linfonodo, baço) se tornam incapazes de responder subsequentemente a esses antígenos. Os mecanismos de tolerância periférica são responsáveis pela tolerância das células T aos antígenos próprios dos tecidos que não foram encontrados em altas concentrações no timo. Os mecanismos podem induzir a não responsividade a formas tolerogênicas aos antígenos estranhos. A tolerância periférica é devida a anergia, deleção ou supressão das células T, e cada um desses mecanismos foi definido em diferentes modelos experimentais. Já os linfócitos B maduros que reconhecem antígenos próprios nos tecidos periféricos na ausência de células T auxiliaadoras específicas podem se tornar funcionalmente sem resposta (enérgicas) ou morrer por apoptose <sup>(48)</sup>.



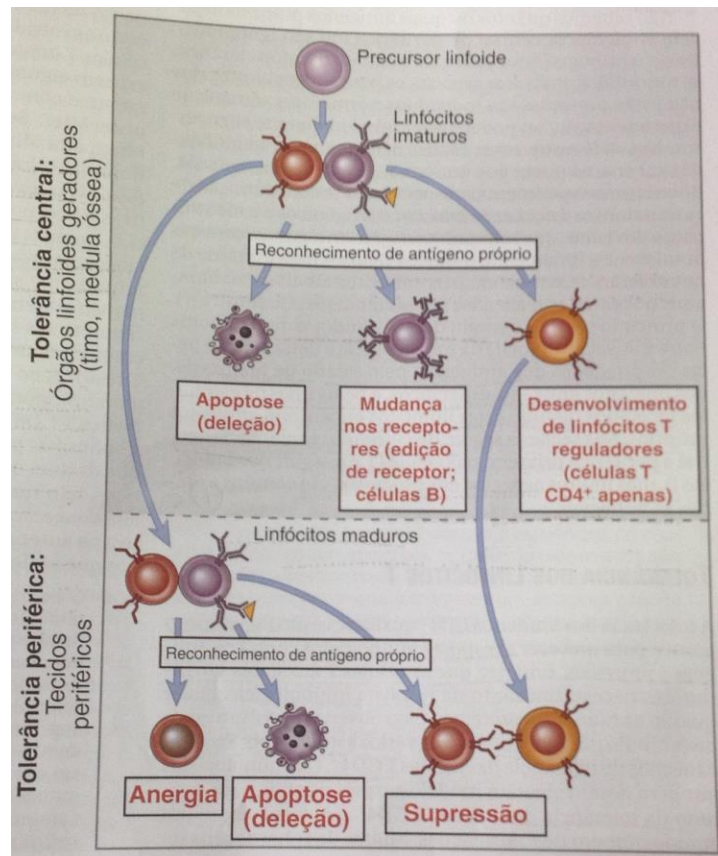


Figura 07: Tolerância central e periférica a antígenos próprios. (ABBAS, 2008.)

Além da autotolerância existem outros fatores que também contribuem para o desenvolvimento da autoimunidade, como a susceptibilidade genética e os desencadeantes ambientais <sup>(48)</sup>.

#### 1.4. Tireoidite de Hashimoto

Em 1912, Hashimoto descreveu 4 pacientes com alterações crônicas na tireoide as quais denominou de “struma lymphomatosa”. Nestes pacientes, a tireoide foi caracterizada por infiltração linfocítica difusa, fibrose e atrofia parenquimatosa, e alterações eosinofílicas em células acinares. Desde então a doença recebeu diversos nomes como Tireoidite de Hashimoto, tireoidite crônica, tireoidite linfocítica, bócio linfadenomatoso e, recentemente, tireoidite autoimune <sup>(11)</sup>.



Figura 08: Dr. Hakaru Hashimoto ([www.thyroidmanager.org](http://www.thyroidmanager.org), acessado em 30 de Out. 2013.).

Esta doença foi incomum por muitos anos e o diagnóstico era feito após uma tireoidectomia. Atualmente é a doença tireoidiana mais comum, e frequentemente associada ao hipotireoidismo, sua incidência é maior no sexo feminino, em adolescente ou meia idade. <sup>(12,13,14,15)</sup>

#### 1.4.1. Patologia

O bócio é geralmente simétrico, muitas vezes com o lobo piramidal visível. Grosseiramente, o tecido da tireoide com tireoidite de Hashimoto é de rosado ou fracamente amarelado e tende a ter uma consistência de borracha. A superfície da cápsula é suavemente lobulada e não aderente às estruturas da tireoide. Histologicamente, existe um processo difuso de uma combinação da destruição de células epiteliais, infiltração celular linfoide e fibrose. As células da tireoide tendem a ser um pouco maiores e assumir um caráter de coloração acidófila, então eles são chamados de células Hurthle ou Askanazy. Os espaços foliculares encolhem, e o coloide é ausente ou escasso. Depósitos de material denso representando IgG são encontrados ao longo da membrana basal na microscopia eletrônica <sup>(50)</sup>.

As análises de imagens de microscopia eletrônica da tireoide oriundos de pacientes portadores de tireoidite de Hashimoto demonstraram dentro dos folículos tireoideanos aglomerados de macrófagos, infiltração linfóide no tecido intersticial acompanhado por formação de folículos linfóides com centros germinativos, caracterizando células do sistema imunológico envolvidas no processo inflamatório <sup>(4,5,6)</sup>. Estudos sobre as características dos linfócitos na tireoide — e seus relatos — demonstram a existência de proporções iguais de células T e B <sup>(1)</sup>. A maioria de células T infiltrantes tem subunidades alfa/beta nos receptores de células T (TCR- T cell receptor). TCR gama/delta são raros <sup>(2)</sup>, embora sua proporção em linfócitos intratireoidianos seja maior do que em linfócitos periféricos <sup>(3)</sup>. Quanto aos linfócitos B, são descritos que seus receptores antigênicos (BCR-B) são imunoglobulinas ligadas à membrana com especificidades para epitopos conformacionais, isto é, na tireoidite de Hashimoto, são altamente dependentes da estrutura tridimensional da molécula TPO, a produção de autoanticorpos anti-TPO e anti-Tg auxiliam o diagnóstico laboratorial <sup>(16)</sup>.

#### 1.4.2. Patogênese

Na tireoidite de Hashimoto, o ataque imunológico parece ser tipicamente agressivo e destrutivo, em vez de estimulado, como na doença de Graves (DG), e essa diferença ocorre muito provavelmente devido às características da resposta imune. Tireoidite de Hashimoto é relatada para ocorrer em duas variedades, uma variedade atrófica, talvez associada com HLA-DR3 e uma forma com bócio associado ao HLA-DR5. Em estudos de hipotireoidismo autoimune em gêmeos monozigóticos, a taxa de concordância é inferior a 1 e, portanto, os fatores ambientais são também etiologicamente importantes <sup>(51)</sup>. Em relação aos genes de susceptibilidade para a tireoidite de Hashimoto, genes não-MHC de classe II foram recentemente investigados. Um certo número de dados acumulados demonstraram uma associação entre células T citotóxicas antígeno-4 (CTLA-4), que é um importante regulador negativo da função imunológica mediada por células T em doenças autoimunes, incluindo tireoidite de Hashimoto <sup>(50)</sup>.

Quanto aos fatores ambientais, alta ingestão de iodo, deficiência de selênio, poluentes como o fumo do tabaco, doenças infecciosas como a hepatite C, e certas drogas estão implicados no desenvolvimento da tireoidite autoimune <sup>(52)</sup>. Iodo exposição de longo prazo conduz a um aumento da iodinação da tg, o que aumenta a sua antigenicidade e inicia o processo autoimune em indivíduos geneticamente suscetíveis. A deficiência em selênio diminui a atividade de selenoproteínas, incluindo as peroxidases de glutatona, que podem conduzir a elevadas concentrações de peróxido de hidrogênio e, assim, promovem a inflamação e doença. Poluentes ambientais, como fumar, bifenil policlorados, solventes e metais tem sido implicados no processo de autoimune e inflamação. Os fatores ambientais ainda não foram suficientemente investigados para esclarecer seu papel na patogênese, e existe uma necessidade de avaliar os seus efeitos sobre o desenvolvimento do processo autoimune e dos mecanismos de suas interações com os genes de susceptibilidade <sup>(50)</sup>.

Altos títulos de anticorpos contra tireoglobulina (Tg) e peroxidase (TPO) estão presentes na maioria dos pacientes com tireoidite de Hashimoto <sup>(16)</sup>, anticorpos anti-TPO são de fixação de complemento e podem ser citotóxicos. No entanto, a evidência de sua citotoxicidade é escassa, especialmente porque a passagem transplacentária de anticorpos anti-TPO para o feto humano não costuma provocar danos à tireoide <sup>(50)</sup>.

Tem sido relatado aumento da função de células T citotóxicas e Natural Killer (NK) na tireoidite de Hashimoto <sup>(53)</sup>. A disfunção (ou supressão) de populações de células T CD4<sup>+</sup> regulatórias (Treg) pode levar ao desenvolvimento de várias doenças autoimunes órgão-específicas, incluindo tireoidite de Hashimoto <sup>(53,54)</sup>. Apesar da falta de compreensão da causa primária, é certo que a autoimunidade da tireoide leva a coleção de linfócitos na tireoide que são responsáveis pelos danos às suas células epiteliais. Danos progressivos às células da tireoide podem alterar o quadro clínico aparente de hipotireoidismo com bócio ao hipotireoidismo primário. O hipotireoidismo primário é considerado o estágio final de tireoidite de Hashimoto. A infiltração linfocítica foi associada com propagação intermoleculares da resposta do

anticorpo TSHR a outros antígenos da tireoide autoimune, TPO e Tg. Estes dados sugerem um papel para Treg na progressão natural do hipotireoidismo relacionado à tireoidite de Hashimoto em humanos <sup>(50)</sup>.

#### 1.4.3. Incidência e Distribuição

A incidência mundial da tireoidite de Hashimoto é de aproximadamente 0,3-1,5 casos por mil pessoas ao ano. A doença é de 4 a 10 vezes mais frequente em mulheres do que em homens. Ela ocorre principalmente durante a faixa etária de 30 a 50 anos, mas pode ser visto em qualquer grupo etário, incluindo as crianças. É certo que existe com uma frequência muito maior do que é clinicamente diagnosticada, e sua frequência parece estar aumentando. Estudos em famílias mostram que há um componente genético envolvido. Além da tireoidite manifesta, cerca de 10% da maioria das populações têm resultados de testes de anticorpos de TG e TPO positivos na ausência aparente de doença da tireoide através de exame físico <sup>(55,56,57,78)</sup>.

#### 1.4.4. Curso da doença

A tireoidite de Hashimoto começa como um alargamento gradual da glândula tireoide (bócio difuso) e com o desenvolvimento gradativo do hipotireoidismo. Muitas vezes, é descoberto pelo paciente, que encontra no pescoço uma nova massa, enquanto faz o autoexame por causa de um vago desconforto nesta região <sup>(50)</sup>.

Tabela 04: Apresentações de Tireoidite de Hashimoto

1. Eutireoidismo e bócio
2. Hipotireoidismo subclínico e bócio
3. Falha primária da tireoide
4. Hipotireoidismo
5. Bócio Adolescente
6. Tireoidite indolor ou Tireoidite silenciosa
7. Pós-parto tireotoxicose indolor
8. Alternando hipo e hipertireoidismo

Fonte: [www.thyroidmanager.org](http://www.thyroidmanager.org), acesso em: 30 de Out. 2013.

Em alguns casos, a glândula tireoide pode aumentar rapidamente, raramente, está associada com dispneia ou disfagia de pressão sobre as estruturas do pescoço, ou com dor leve e sensibilidade. Raramente, a dor é persistente e não responde ao tratamento médico requerendo de uma intervenção cirúrgica. O bócio da tireoidite de Hashimoto pode permanecer inalterado por décadas <sup>(57)</sup>, mas geralmente aumenta gradualmente seu tamanho. Ocasionalmente, o curso é marcado por sintomas de tireotoxicose leve, especialmente durante a fase inicial da doença <sup>(50)</sup>.

Geralmente a progressão do eutireoidismo ao hipotireoidismo tem sido considerado um processo irreversível devido aos danos nas células da tireoide e perda de lojas de iodo tireoidianos. No entanto, é claro agora que até um quarto dos pacientes que são hipotireoideos podem voltar espontaneamente à função normal ao longo de vários anos. Esta sequência pode refletir o efeito inicial de altos títulos de anticorpos bloqueadores de estimulação da tireoide que diminuem com o tempo e permitem que sua função possa voltar <sup>(58)</sup>. Nos últimos anos tem se descrito na literatura a associação da tireoidite de Hashimoto com síndromes e outras doenças <sup>(50)</sup>.

#### 1.4.5. Diagnóstico

O diagnóstico de tireoidite de Hashimoto é feito através do quadro clínico, alterações nos hormônios tireoidianos e presença de autoanticorpos <sup>(50)</sup>.

No quadro clínico, o bócio difuso firme com alargamento piramidal do lobo sem sinais de tireotoxicose deve sugerir o diagnóstico de tireoidite de Hashimoto. Na maioria das vezes a glândula tireoide é nodulada, geralmente é simétrica, embora muita variação na simetria (bem como na consistência) possa ocorrer; a traqueia é raramente desviada ou comprimida; dor e sensibilidade são incomuns, mas podem estar presentes <sup>(50)</sup>.

O Bócio ocorre em significativa incidência em mulheres adultas, assim, a co-ocorrência de bócio multinodular e tireoidite de Hashimoto não é raro, e pode proporcionar a descoberta de uma glândula grosseiramente nodular em um paciente que é levemente hipotireoideo e tem testes de anticorpos positivos <sup>(50)</sup>.

As alterações presentes na concentração dos hormônios tireoidianos são variáveis. O T4 e T4L podem estar com seus valores normais ou diminuídos, o valor do TSH reflete o estado metabólico do paciente, no entanto, algumas pessoas são clinicamente eutireoideas com níveis de FTI (Índice de Tiroxina Livre) e T3 normais, mas com o TSH ligeiramente elevado <sup>(50)</sup>.

Níveis elevados de anticorpos anti-TPO e anti-Tg estão presentes em pacientes com tireoidite de Hashimoto e são utilizados como método diagnóstico. O anti-TPO é positivo em cerca de 80% dos pacientes, e quando ambos os autoanticorpos são medidos, a positividade é de 97%. Pacientes jovens tendem a ter níveis mais baixos e, ocasionalmente, negativos. Nesta faixa etária, até mesmo títulos baixos significam a presença de autoimunidade da tireoide <sup>(50)</sup>.

Tabela 05: Orientação para o diagnóstico de tireoidite de Hashimoto.

<p>1. Achados Clínicos: Aumento da glândula tireoide (bócio difuso) sem qualquer outra causa.</p>
<p>2. Achados Laboratoriais:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Positivo para anticorpos anti-TPO</li> <li>b. Positivo para anticorpos anti-Tg</li> <li>c. Infiltração de linfócitos na glândula tireoide confirmado por exame citológico por punção aspirativa por agulha fina (PAAF)</li> </ul>
<p>3. O paciente deve ser diagnosticado com tireoidite de Hashimoto, se ele estiver satisfeito com os critérios clínicos e laboratoriais.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. O paciente deve ser suspeito de ter tireoidite de Hashimoto, se ele tem hipotireoidismo primário sem qualquer outra causa para induzir hipotireoidismo.</li> <li>b. O paciente deve ter tireoidite de Hashimoto se ele tem anticorpos anti-TPO e/ou anti-Tg sem disfunção da tireoide, nem formação de bócio.</li> <li>c. Se um paciente com neoplasia da tireoide tem anticorpo anti-TPO, ele tem tireoidite de Hashimoto.</li> <li>d. É possível um paciente ter tireoidite de Hashimoto se for observada na ultrassonografia da tireoide um nódulo hipoecóico e/ou com um padrão não uniforme</li> </ul>

Fonte: Modificado de <http://www.thyroidmanager.org/chapter/hashimotos-thyroiditis>, acessado em 06 de Nov. 2013.

Tabela 06: Valores de Referência dos hormônios tireoidianos e autoanticorpos.

<b>Hormônios Tireoidianos</b>	
T4 Total	1 a 5 anos – 7,0 a 15,0 mcg/dL 6 a 12 anos – 6,5 a 13,5 mcg/dL Adulto – 4,5 a 12,5 mcg/dL
T4 Livre (T4L)	0,8 a 1,9 ng/dL
TSH	0,3 a 5,0 mIU/mL
T3 Total	1 a 5 anos – 100 a 270 ng/dL 6 a 12 anos – 90 a 240 ng/dL Adulto – 70 a 210 ng/dL
T3 Livre (T3L)	200 a 420 pg/dL
T3 Reverso (rT3)	9,0 a 35,0 ng/dL
<b>Anticorpos Anti-Tireoide</b>	
TPO	Até 34U/mL
Tg	Até 115U/mL

Fonte: Modificado de

<http://www.sergiofranco.com.br/bioinforme/index.asp?cs=ValoresReferencia&ps=valoresReferencia>, acesso em 6 de Nov. 2013.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Descrever de acordo com as normas, as técnicas mais atuais e utilizadas na dosagem de hormônios tireoidianos e autoanticorpos para as enzimas tireoidianas. Além de outras técnicas imunológicas para análise de espécimes de linfócitos presentes na Tireoidite de Hashimoto envolvidos na autoimunidade.

### **2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO**

Descrever as técnicas utilizadas na dosagem de TSH, T4 Livre, anti-TPO e anti-Tg, além da técnica de Citometria de Fluxo utilizada na caracterização fenotípica das populações celulares.

### **3. JUSTIFICATIVA**

Doenças autoimunes desenvolvem lesões teciduais crônicas. Os processos inflamatórios crônicos são responsáveis pela perda funcional dos tecidos envolvidos, levando na maioria das vezes, a grande morbidade ou mesmo ao óbito. A Tireoidite de Hashimoto é o tipo mais comum de tireoidite e uma das mais comuns doenças endocrinológicas. A inflamação crônica presente nesta doença compromete a glândula desencadeando o processo de autoimunidade. Portanto, é necessária a padronização do melhor teste laboratorial para diagnóstico precoce da patologia e sua técnica de coleta de materiais biológicos.

#### 4. METODOLOGIA

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

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

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

A função tireoidiana pode ser avaliada por uma grande variedade de testes. Sendo os mais específicos para Tireoidite de Hashimoto os seguintes:

##### 4.1. TESTES QUE DETERMINAM A CONCENTRAÇÃO DE HORMÔNIOS NO SANGUE:

Dosagem de T4: Todas as metodologias de dosagem de T4, empregadas hoje no laboratório clínico, são baseadas em imunoenaios usando marcadores isotópicos (Radioimunoensaio, RIA) ou não (Imunoensaio por Quimioluminescência, CLIA; Imunoensaio por Fluorescência Polarizada, FPIA; Enzima Imunoensaio, EIA e Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima, ELISA).

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

Dosagem de T3: Como para a dosagem de T4, são empregadas as metodologias de imunoenaios isotópicos e não isotópicos.

Dosagem de T4 e T3 Livres: Os laboratórios clínicos utilizam atualmente mais os métodos de imunoensaio (EIA, CLIA, FPIA e RIA), mas existe outra técnica para dosagem de T4L, o imunoensaio após diálise de equilíbrio em condições padronizadas. O dialisado é a seguir analisado diretamente através de um imunoensaio específico e sensível. Como ela é uma metodologia que consome muito tempo e é bastante trabalhosa, praticamente não é empregada nos laboratórios clínicos.

#### 4.1.1. Imunoensaio usando Marcadores Isotópicos

**RIA.** Este método baseia-se na competição de um antígeno presente na amostra em análise com um antígeno marcado com um isótopo radioativo pelo mesmo anticorpo. A concentração do antígeno em análise será inversamente proporcional à radiação emitida. Trata-se de uma técnica com alta especificidade e sensibilidade, porém com elevado custo e grande risco operacional por manipular material radioativo <sup>(74)</sup>.

#### 4.1.2. Imunoensaio usando Marcadores Não Isotópicos

**CLIA.** Esse teste tem alta sensibilidade e utiliza como conjugados moléculas geradoras de quimioluminescência. Esta reação hidrolisa o substrato quimioluminescente gerando um produto instável o qual após estabilização gera emissão de fótons de luz (amplificados) que é medido através de um fotomultiplicador, que tem a função de transformar a luz emitida pelos fótons em impulsos elétricos <sup>(75)</sup>.

**FPIA.** É uma técnica de imunofluorescência do tipo homogênea, também chamado fluoroimunoensaio. As moléculas fluorescentes absorvem luz de um comprimento de onda (excitação) e emitem luz de outro comprimento de onda (emissão), de forma que a detecção ocorre através da emissão de luz colorida quando as moléculas fluorescentes são excitadas por uma luz de comprimento de onda apropriado. Nesta técnica, os antígenos são marcados com fluorocromos, os quais vão competir com um antígeno não marcado presente na amostra por um sítio de ligação no anticorpo. Os antígenos marcados em solução emitem menos luz polarizada do que quando ligados ao anticorpo. A

leitura desta luz é feita em microscópio de fluorescência. A quantidade de antígeno na amostra é inversamente proporcional à quantidade de luz polarizada detectada <sup>(72,73)</sup>.

**EIA.** A reação antígeno-anticorpo é monitorada por medida da reação enzimática, podendo-se obter sensibilidades analíticas similares as do RIA, sem o inconveniente uso de radioisótopos <sup>(70)</sup>.

**ELISA.** Método para quantificar um antígeno imobilizado numa superfície sólida pelo uso de um anticorpo específico que tenha enzima acoplada de maneira covalente. A quantidade de anticorpo que se liga ao antígeno é proporcional à quantidade de antígeno presente e é determinada por dosagem espectrofotométrica da conversão de um substrato claro em um produto colorido pela enzima acoplada <sup>(48)</sup>.

#### 4.2. TESTES QUE AVALIAM O EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-TIREOIDE:

Dosagem de TSH: Os métodos disponíveis são CLIA, FPIA, EIA, ELISA e RIA.

#### 4.3. TESTES QUE DETERMINAM OS AUTOANTICORPOS TIREOIDIANOS:

Anticorpo Anti-Tg e Anticorpo Anti-TPO: As técnicas laboratoriais empregadas para análise dos anticorpos antitireoidianos são a Hemaglutinação, ELISA, RIA e Ensaio Imuno-Radiométrico (IRMA).

##### 4.3.1. Hemaglutinação

Reação que gera agregação de eritrócitos devida à presença de anticorpo. Hemácias sensibilizadas por antígenos específicos são usados para testar o soro do paciente. Quando há ausência de agente hemaglutinizante (anticorpo) as hemácias sedimentam na forma de botão compacto e quando existe aglutinação às hemácias sedimentam de forma difusa (tapete) <sup>(74)</sup>.

#### 4.3.2. Ensaio Imuno-Radiométrico

Ensaio imunométrico quimioluminescente que emprega dois anticorpos, sendo um de captura direcionado contra uma das extremidades da molécula intacta, e um anticorpo de detecção marcado direcionado contra a extremidade oposta, sendo assim, somente moléculas integras são capazes de se ligar aos dois anticorpos e serem mensuradas <sup>(71)</sup>.

#### 4.4. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DAS POPULAÇÕES CELULARES:

Para melhor compreensão do perfil de resposta imunológica da tireoidite de Hashimoto, o ideal seria a realização de uma fenotipagem dos leucócitos totais de sangue periférico (linfócitos T, B e macrófagos) a partir da técnica de citometria de fluxo.

##### 4.4.1. Citometria de Fluxo

Método de análise do fenótipo de populações celulares que precisam de um instrumento especializado (citômetro de fluxo) que possa detectar fluorescência em células individuais numa suspensão e, assim, determinar o número de células que expressam a molécula à qual a sonda fluorescente se liga. As suspensões de células são incubadas com anticorpos marcados com fluorescência ou outras sondas, e a quantidade de sonda ligada para cada população é medida pela passagem das células, uma a cada vez, através de um fluorímetro com feixe incidente gerado por laser <sup>(48)</sup>.

## 5. DISCUSSÃO

A tireoidite é um conjunto de doenças inflamatórias que afetam a glândula tireoide. A Tireoidite crônica ou Tireoidite de Hashimoto é uma moléstia autoimune com a presença de autoanticorpos que destroem o tecido tireoidiano. As manifestações da Tireoidite de Hashimoto são variáveis, podendo ser do tipo hipo, hiper ou eutireoidismo <sup>(80)</sup>.

Define-se hipotireoidismo subclínico no caso de pacientes que apresentam níveis circulantes normais de T4 na presença de TSH elevado. Mas não existe, na literatura, nível de TSH definido para o diagnóstico de hipotireoidismo subclínico. Pode representar uma falência inicial da glândula tireoide e pode ocorrer na presença ou ausência de sintomas. Normalmente é assintomático, e diagnosticado por meio da determinação do TSH <sup>(81)</sup>. A causa mais comum do hipotireoidismo subclínico é a tireoidite autoimune (doença de Hashimoto). Um estudo prospectivo de 9 anos demonstrou que de acordo com a concentração inicial de TSH, de 4 a 6; maior que 6 e até 12; e maior que 12 mU/L, a incidência de hipotireoidismo foi, respectivamente, de 0%; 42,8% e 76,9%. A presença de autoanticorpos prediz a falência tireoidiana, embora a sua influência seja menor do que a da concentração de TSH circulante <sup>(76,82)</sup>.

A secreção hipofisária de TSH regula a secreção de T4 e T3, que por sua vez exercem feedback negativo no tireotrofo hipofisário com uma relação log-linear <sup>(35,83)</sup>. Desta forma, pequenas alterações nas concentrações dos hormônios tireoidianos livres resultam em grandes alterações nas concentrações séricas de TSH, tornando o TSH o melhor indicador de alterações discretas da produção tireoidiana <sup>(84)</sup>. Os ensaios de primeira geração do TSH permitiam apenas o diagnóstico de hipotireoidismo. Com a utilização dos ensaios de TSH de segunda geração (sensibilidade funcional de 0,1 a 0,2 mU/L) e de terceira geração (sensibilidade funcional de 0,01 a 0,02 mU/L), foi possível a sua utilização também na detecção do hipertireoidismo, tornando-se a dosagem do TSH o teste mais útil na avaliação da função tireoidiana <sup>(75,85)</sup>.

A mensuração do TSH tem sido utilizada como triagem no diagnóstico de disfunção tireoidiana, especialmente na insuficiência tireoidiana mínima (hipotireoidismo subclínico). A dosagem de TSH está recomendada a cada cinco anos em indivíduos com idade igual ou superior a 35 anos <sup>(86)</sup>. Em pacientes com hipotireoidismo ou hipertireoidismo crônico e severo, o TSH pode permanecer alterado apesar da normalização dos níveis livres de hormônios tireoidianos. Nestas situações, que podem levar de dois meses até um ano após a normalização dos níveis hormonais de T3 e T4, a dosagem do TSH pode não indicar adequadamente o estado tireoidiano, em função da prévia supressão ou hipertrofia dos tireotrofos, respectivamente <sup>(83,87)</sup>.

O T4 é o principal hormônio secretado pela glândula tireoide. Cerca de 80% do T3 plasmático é derivado fora da tireoide através da 5'-monodeiodinação do T4 nos diversos tecidos. Os hormônios tireoidianos circulam na corrente sanguínea quase que totalmente ligados às proteínas plasmáticas, apenas 0,03% do T4 e 0,3% do T3 circulam na forma livre <sup>(88)</sup>. As concentrações de T4 e T3 livre são mais relevantes do que as do hormônio total. Primeiramente, o hormônio livre é o hormônio biologicamente ativo. Além disso, as várias alterações nas proteínas transportadoras (adquiridas ou herdadas) alteram as concentrações séricas do T4 e do T3 total, independente do status tireoidiano <sup>(89)</sup>. O TSH e o T4 livre são utilizados de rotina na avaliação da função tireoidiana e no seguimento do tratamento do hiper e do hipotireoidismo. O T4 livre não é suscetível às alterações nas proteínas transportadoras de hormônio tireoidiano e possui uma variação intraindividual muito pequena <sup>(90)</sup>. O T4 total deve ser avaliado quando há discordância nos testes anteriormente citados <sup>(91)</sup>.

No entanto, o T3 total ou livre tem pouca acurácia para o diagnóstico de hipotireoidismo. A conversão aumentada de T4 para T3 mantém concentração sérica de T3 nos limites normais até o hipotireoidismo se tornar severo <sup>(90)</sup>. As concentrações séricas de T3 e T4 total e livre são medidas por imunoenaios competitivos (IMAs) <sup>(92)</sup>.

A maioria das interferências nos ensaios de T4 e T3 total e livre causa valores inapropriadamente anormais destes na presença de concentração sérica normal de TSH <sup>(93)</sup>. As interferências nos imunoenaios (IMAs) podem ser atribuídas à reação cruzada, interações com drogas e presença de



anticorpos (autoanticorpos ou heterofilos). A prevalência destas interferências na população esta entre 0,1% e 2% e nas doenças tireoidianas varia de 1 a 10% <sup>(94)</sup>.

Quando os resultados laboratoriais são discordantes dos achados clínicos, deve-se analisar a possibilidade de doença prévia não diagnosticada, doença subclínica ou alteração no ensaio. As seguintes etapas podem ser esclarecedoras nestas situações: reavaliar o contexto clínico, descartar síndromes de resistência e anormalidades das proteínas transportadoras; medir TSH com método sensível; utilizar um método comparativo para o hormônio tireoidiano alterado; medir T4 livre utilizando método diálise de equilíbrio (padrão ouro, mas não muito utilizado pelos laboratórios); medir T3 e T4 total para esclarecer artefatos na medida de T4 livre e utilizar técnicas para remover ou identificar fatores interferentes <sup>(75)</sup>.

Os três principais antígenos tireoidianos envolvidos na patogênese das doenças autoimunes da tireoide (DAT) foram identificados como tireoglobulina (Tg), tireoperoxidase (TPO) e receptor de TSH (TSH-R). Os anticorpos contra outros antígenos expressos na tireoide (NIS e megalina) foram detectados recentemente nas DAT, mas sua dosagem não é comumente usada na prática clínica. Altos níveis de anticorpos antitireoidianos estão geralmente presentes no soro de pacientes com DAT <sup>(75)</sup>.

Entretanto, em uma proporção significativa de indivíduos saudáveis, níveis de anticorpo anti-Tg (ou TgAb) e de anti-TPO (ou TPOAb) podem ser detectados, variando de 9% a 25% <sup>(95)</sup>. Os anti-Tg estão presentes em 70% a 80% dos pacientes com tireoidite autoimune (TA), em 30% a 40% dos pacientes com Doença de Graves (DG) e em 10% a 15% dos pacientes com doenças não autoimunes da tireoide. Os métodos de RIA, IRMA e ELISA são recomendados para sua detecção <sup>(96)</sup>. Os anti-TPO estão presentes no soro de 90% a 95% dos pacientes com TA, em cerca de 80% dos pacientes com DG e em 10% a 15% dos pacientes com doenças não autoimunes da tireoide. Os métodos IRMA de detecção são os mais sensíveis e devem ser usados preferencialmente <sup>(97)</sup>.

Recomenda-se a dosagem de anti-Tg e anti-TPO quando há suspeita de TA com base na história familiar, na presença de hipotireoidismo primário e/ou de

bócio difuso. No entanto, a ausência não exclui uma tireoidite, pois em uma minoria dos pacientes os anticorpos podem ser indetectáveis. Por outro lado, a presença dos anticorpos por si só não é suficiente para fazer o diagnóstico de DAT, uma vez que uma minoria de indivíduos normais e de pacientes com doença não autoimune da tireoide podem ter níveis detectáveis de anticorpos. Assim sendo, outros testes clínicos são necessários para confirmar o diagnóstico de TA, como a ultrassonografia de tireoide <sup>(98)</sup>.

Independente da doença tireoidiana subjacente, os anticorpos anti-TPO são mais frequentemente observados do que os anti-Tg e constituem um índice de autoimunidade mais sensível. Deve-se dar preferência ao anti-TPO se restrições de custo forem necessárias <sup>(97)</sup>. Os anticorpos anti-receptores de TSH (TSHR ou TRAb) podem estimular diretamente a função tireoidiana ou inibir os efeitos biológicos do TSH <sup>(99)</sup>. O TRAb está presente no soro de mais de 90% dos pacientes com DG <sup>(100)</sup>, mas sua utilidade diagnóstica é limitada. A prevalência de TRAb varia de 10% a 75% em pacientes com tireoidite atrófica, e de 0% a 20% em pacientes com tireoidite de Hashimoto <sup>(101)</sup>, não sendo sua dosagem necessária para o diagnóstico da doença <sup>(75)</sup>.

A função tireoidiana pode ser avaliada por uma grande variedade de testes, os que determinam a concentração dos hormônios no sangue, os que avaliam o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, os que determinam autoanticorpos tireoidianos, os que avaliam o metabolismo do iodo, a morfologia e tamanho da glândula, biopsia e os de observação dos efeitos dos HTs sobre os tecidos periféricos. Apesar dessa grande gama de testes diagnósticos para a tireoidite de Hashimoto sem presença de nódulos na glândula são utilizados apenas os de dosagem de hormônios (TSH e T4L) e autoanticorpos (anti-Tg e anti-TPO) <sup>(9,75,76)</sup>.

Para a realização dos testes é necessária uma amostra de sangue do paciente que é colhida por punção venosa. Para os testes de TSH e T4L deve-se usar preferencialmente soro, o plasma colhido com EDTA ou Heparina também pode ser utilizado, entretanto, como o plasma tende a formar coágulos após refrigeração, tais coágulos podem interferir mecanicamente no ensaio, especialmente se utilizar o sistema automático. Deve-se ao máximo evitar trabalhar com amostras hemolisadas ou lipêmicas. A conservação da amostra

biológica deve ser feita à temperatura de 2 a 8°C por 5 dias no máximo, caso a amostra não é dosada no mesmo dia; amostras congeladas conservam-se por 30 dias. Para a dosagem dos autoanticorpos deve-se utilizar apenas o soro, que pode ser congelado se o teste não for realizado no mesmo dia da colheita. Os valores de referência variam de acordo com o método utilizado e é recomendado que cada laboratório deve estabelecer o seu próprio valor <sup>(9)</sup>.

Um método inovador, não utilizado nas análises clínicas, para melhor compreensão do perfil da resposta imunológica da tireoidite de Hashimoto, seria a realização de uma fenotipagem dos leucócitos totais de sangue periférico a partir da técnica de citometria de fluxo, pois, o ataque imunológico nesta doença parece ser tipicamente agressivo e destrutivo, em vez de estimulado, como na DG, e essa diferença ocorre muito provavelmente devido às características da resposta imune <sup>(51)</sup>. Saber quem são essas células envolvidas ajudaria em um melhor diagnóstico e conseqüentemente tratamento da patologia.

## 6. CONCLUSÃO

Apesar de existir uma grande gama de testes laboratoriais para a tireoidite de Hashimoto são utilizados para o diagnóstico da doença apenas os de dosagem dos hormônios TSH e T4L e anticorpos antitireoidianos (anti-Tg e anti-TPO).

A mensuração do TSH tem sido utilizada como triagem no diagnóstico de disfunção tireoidiana, por isso, deve-se utilizar um ensaio mais sensível, como o TSH ultrasensível (terceira geração).

O T4 livre não é suscetível às alterações nas proteínas transportadoras de hormônio tireoidiano e possui uma variação intraindividual muito pequena sendo melhor parâmetro do que o T4 total.

A pesquisa de anticorpos antitireoidianos é fundamental para o diagnóstico seguro de tireoidite de Hashimoto. A técnica laboratorial mais sensível empregada na análise desses anticorpos é o IRMA.

Deve-se utilizar preferencialmente soro nos imunoenaios.

A realização de uma fenotipagem dos leucócitos totais de sangue periférico a partir da técnica de citometria de fluxo ajudaria em um melhor diagnóstico e tratamento da doença de Hashimoto.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TOTTERMAN, T.H., et al. Blood and thyroid-infiltrating lymphocyte subclasses in juvenile autoimmune thyroiditis. *Clin exp Immunol*, n. 30, p.193. 1977.
2. PAOLIERI, F., et al. Infiltrating gamma/delta T-cell receptor-positive lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis, Graves' disease and papillary thyroid cancer. *J Endocrinol Invest.*, n., 18, p. 295-298. 1995.
3. IWATANI, Y., et al. Intrathyroidal lymphocyte subsets, including unusual CD4+ CD8+ cells and CD3loTCR alpha beta lo/-CD4-CD8- cells, in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol.*, n. 93, p. 430-436. 1993.
4. DAVIES, T.F., et al. Evidence of limited variability of antigen receptors on intrathyroidal T cells in autoimmune thyroid disease. *N Engl J Med.*, n. 325, p. 238-244. 1991.
5. DAVIES, T.F., et al. T-cell receptor V gene use in autoimmune thyroid disease: direct assessment by thyroid aspiration. *J Clin Endocrinol Metab.*, n. 76, p. 660-666. 1993.
6. HEUER, M., et al. Different cytokine mRNA profiles in Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, and nonautoimmune thyroid disorders determined by quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Thyroid*, n. 6, p. 97-106. 1996.
7. GREENSPAN, F.S.; STREWLER, G.J. *Greenspan's Basic & clinical endocrinology*. 7ª ed. Lange. Londres. 2001.
8. VAISMAN, M.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D.P. Enzimas envolvidas na organificação tireoideana do iodo. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v.48, n.1. 2004.
9. LOPES, H.J.J. *Função Tireoidiana: Principais testes laboratoriais e aplicações diagnósticas*. Belo Horizonte, Analisa, 2002. 30 p.

10. NUNES, M.T. Hormônios tiroideanos: mecanismo de ação e importância biológica. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 47, n. 6. 2003.
11. MCCONAHEY, W.M., et al. On the increasing occurrence of Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, n 22,p.542.1962.
12. GORDIN, A., et al. Serum thyrotrophin and circulating thyroglobulin and thyroid microsomal antibodies in a Finnish population. *Acta Endocrinol*,n. 90, p. 33.1979.
13. LING, S.M., et al. Euthyroid goiters in children. Correlation of needle biopsy with other clinical and laboratory findings in chronic lymphocytic thyroiditis and simple goiter. *Pediatrics*, n. 44, p. 695.1969.
14. TUNBRIDGE, W.M.G., et al. The spectrum of thyroid disease in a community. The Wickham Survey. *Clin Endocrinol*, n. 7, p. 481.1977.
15. INOUE, M., et al. High incidence of chronic lymphocytic thyroiditis in apparently healthy school children: Epidemiological and clinical study. *Endocrinol Jpn*, n. 22, p. 483. 1975.
16. MORI, T.; KRIS, J.P. Measurements by competitive binding radioassay of serum antimicrosomal and anti-thyroglobulin antibodies in Graves' disease and other thyroid disorders. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 33, p. 688. 1971.
17. MOORE, K.L.; DALLEY, A.F. *Anatomia orientada para a clínica*. 4ª Ed. Guanabara Koogan. p. 944 – 947.
18. GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado De Fisiologia Médica*. 9ª Ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 1997.
19. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Sistema de perguntas e respostas (FAQ): Sal.  
<<http://www.anvisa.gov.br/faqdinamica/index.asp?Secao=Usuario&usersecoes=28&userassunto=174>> Acesso em: 26 de set. 2013

20. WARD, L.S. Carência do Iodo: desafios da erradicação plena e monitorização da suplementação.< <http://www.tireoide.org.br/campanha-contracarencia-de-iodo/>> Acesso em: 26 de set. 2013.
21. DOHAN, O., et al. The sodium/iodide symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance. *Endocr Ver*, n. 24, p. 48-77. 2003.
22. ENG, P.H., et al. Escape from acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology*, n. 140, p. 3404-3410. 1999.
23. CARVALHO, D.P.; ROSENTHAL, D.; BREITENBACH, M.M.D. Analysis of thyroglobulin 27S and 19S and their hormonal content in human thyroid glands. *Braz J Med Biol Res*, n. 20, p. 415-418. 1987.
24. TAUROG, A. *The thyroid: A fundamental and clinical text*. 8th Ed. New York. p. 85–91. 2000.
25. LARSEN, P.R., et al. *Williams' textbook of endocrinology*. 10th Ed. Philadelphia. p.331-373. 2003.
26. DI LAURO, R., et al. The sequence of 967 amino acids at the carboxyl-end of rat thyroglobulin: location and surrounding of two thyroxine-forming sites. *Eur J Biochem*, n.148, p. 7-11. 1985.
27. GÉRARD, C.M., et al. Control of thyroperoxidase and thyroglobulin transcription by cAMP: evidence for distinct regulatory mechanisms. *Mol Endocrinol*, n. 3, p.2110-2118. 1989.
28. MCLACHLAN, S.M.; RAPOPORT, B. Autoimmune response to the thyroid in humans: thyroid peroxidase - the common autoantigenic denominator. *Int Rev Immunol*, n. 19, p.587-618. 2000.
29. BJORKMAN, U.; EKHOLM, R. Hydrogen peroxide generation and its regulation in FRTL-5 and porcine thyroid cells. *Endocrinology*, n. 130, p. 393. 1992.

30. DUPUY, C., et al. Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *J Biol Chem*, n. 266, p. 3739. 1991.
31. CARDOSO, L.C., et al. Sistema enzimático gerador de peróxido de hidrogênio - NADPH oxidase - na tireóide humana. *Arq Bras Endocrinol Metab*, n. 44, p. 352-357. 2000.
32. RASPÉ, E.; DUMONT, J.E. Tonic modulation of dog thyrocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and I<sup>-</sup> uptake by thyrotropin through the cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate cascade. *Endocrinology*, n. 136, p. 965. 1995.
33. CARVALHO, D.P., et al. The Ca<sup>2+</sup> - and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-dependent hydrogen peroxide generating system is induced by thyrotropin in porcine thyroid cells. *Endocrinology*, n. 137, p. 1007-1012. 1996.
34. MELMED, S., et al. *Williams' textbook of endocrinology*. 10th ed. Philadelphia. p.177-279. 2003.
35. SPENCER, C.A., et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 70, p. 453-460. 1990.
36. JAMESON, J.L. *Mechanisms of thyroid hormone action*. Endocrinology. 4th ed. Philadelphia. p.1327-1344. 2001.
37. SCANLON, M.F. *Thyrotropin-releasing hormone and thyroidstimulating hormone*. Endocrinology. 4th ed. Philadelphia. p.1279-89. 2001.
38. SCHOMBURG, L.; BAUER, K. Thyroid hormones rapidly and stringently regulate the messenger RNA levels of the thyrotropin- releasing hormone (TRH) receptor and the TRHdegrading ectoenzyme. *Endocrinology*, n. 136, p. 3480-3485. 1995.
39. MORLEY, J.E. Neuroendocrine control of thyrotropin secretion. *Endocr Rev*, n. 2, p. 396-436. 1981.



40. DE MOURA, E. G.; PAZOS MOURA, C.C. Regulação da Síntese e Secreção de Tireotrofina. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 48, n. 1. 2004.
41. BARRA, G.B., et al. Mecanismo Molecular da Ação do Hormônio Tireoideano. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 48, n. 1. 2004.
42. DAVIS. P.J.; DAVIS, F.B. Non-genomic actions of thyroid hormone. *Thyroid*, p. 497-504. 1996.
43. HENNEMANN, G., et al. Plasma membrane transport of thyroid hormones and its role in thyroid hormone metabolism and bioavailability. *Endocr Ver*, n. 22, p. 451-476. 2001.
44. RIBEIRO, R.C.J., et al. Mechanisms of Thyroid Hormone Action: Insights from X-ray Crystallographic and Functional Studies. *Recent Prog Horm Res*, n. 53, p. 351-394. 1998.
45. ROBINSON-RECHAVI, M., et al. How many nuclear hormone receptors are there in the human genome? *Trends Genet*, n. 17, p. 554 -556. 2001.
46. JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 10ª Ed. 2004.
47. MOORE, L.K. *Embriologia Clínica*. 3ª Ed. 1986.
48. ABBAS, A.K. *Imunobiologia Celular e Molecular*. 6ª ed. Elsevier. Rio de Janeiro. 2008.
49. MACKAY, I.R. Tolerance and autoimmunity. *WJM*, v.174. 2001.
50. AKAMIZU, T.; AMINO, N.; DEGROOT, L.J. Hashimoto's Thyroiditis. < [www.thyroidmanager.org](http://www.thyroidmanager.org) > Acesso em: 30 de Out. 2013.
51. BRIX, T.H.; KYVIK, K.O.; HEGEDUS, L. A population-based study of chronic autoimmune hypothyroidism in Danish twins. *J Clin Endocr Metab*, n. 85, p.536-539. 2000.
52. DUNTAS, L.H. Environmental factors and autoimmune thyroiditis. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008. [Epub ahead of print]

53. HIDAKA, Y., et al. Increase in peripheral natural killer cell activity in patients with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*, n. 11, p. 239. 1992.
54. HASHIMOTO, H. Zur Kenntniss der lymphomatosen Veränderung der Schilddrüse (struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir*, n. 97, p. 219. 1912.
55. GORDIN, A., et al. Serum thyrotrophin and circulating thyroglobulin and thyroid microsomal antibodies in a Finnish population. *Acta Endocrinol*, n. 90, p. 33. 1979.
56. LING, S.M., et al. Euthyroid goiters in children. Correlation of needle biopsy with other clinical and laboratory findings in chronic lymphocytic thyroiditis and simple goiter. *Pediatrics*, n. 44, p. 695. 1969.
57. TUNBRIDGE, W.M.G.; EVERED, D.C.; HALL, R. et al. The spectrum of thyroid disease in a community. The Wickham Survey. *Clin Endocrinol*, n. 7, p. 481. 1977.
58. TAKASU, N., et al. Disappearance of thyrotropin-blocking antibodies and spontaneous recovery from hypothyroidism in autoimmune thyroiditis. *N Engl J Med*, n. 326, p. 513-518. 1992.
59. SKILLERN, P.G., et al. Struma lymphomatosa: Primary thyroid failure with compensatory thyroid enlargement. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 16, p. 35. 1956.
60. PARIS, J., et al. The effect of iodides on Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 21, p. 1037. 1961.
61. ENDO, T., et al. Autoantibody against thyroid iodide transporter in the sera from patients with Hashimoto's thyroiditis possesses iodide transport inhibitory activity. *Bioch Bioph Res Com*, n. 228, p. 199. 1996.
62. CHIN, H.S., et al. Rarity of anti- Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>-symporter (NIS) antibody with iodide uptake inhibiting activity in autoimmune thyroid diseases (AITD). *J Clin Endocrinol Metab*, n. 85, p. 3937-3940. 2000.
63. SEISSLER, J., et al. Low frequency of autoantibodies to the human Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>-symporter (NIS) in patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 85, p. 4630-4634. 2000.

64. BROWN, T.R., et al. Thyroid injury, autoantigen availability, and the initiation of autoimmune thyroiditis. *Autoimmunity*, n. 27, p. 1-12. 1998.
65. LAURBERG, P., et al. Iodine intake and the pattern of thyroid disorders: A comparative epidemiological study of thyroid abnormalities in the elderly in Iceland and in Jutland, Denmark. *J Clin Endocr Metab*, n. 83, p. 765-769. 1998.
66. NAGATA, K., et al. Urinary iodine and thyroid antibodies in Okinawa, Yamagata, Hyogo, and Nagano, Japan: The differences in iodine intake do not affect thyroid antibody positivity. *Endoc J*, n. 45, p. 797-803. 1998.
67. TAJIRI, J., et al. Studies of hypothyroidism in patients with high iodine intake. *J Clin Endocr Metab*, n. 63, p. 412-417. 1986.
68. RUWHOF, C.; DREXHAGE, H.A. Iodine and thyroid autoimmune disease in animal models. *Thyroid*, n. 11, p. 427-436. 2001.
69. DAI, Y.D.; RAO, V.P.; CARAYANNIOIS, G. Enhanced iodination of thyroglobulin facilitates processing and presentation of a cryptic pathogenic peptide. *J Immunol*, n. 168, p. 5907-5911. 2002.
70. XAVIER, R.M., et al. *Laboratório na prática clínica*. 2ª ed. Artmed. 2011.
71. BAYNES, J. *Bioquímica médica*. 3ª ed. Elsevier. 2010.
72. KINDT, T.J.; GOLDSBY, R.A.; OSBORNE, B.A. *Imunologia de Kuby*. 6ª ed. Artmed. 2008. p. 172-194.
73. VAZ, A.J. *Imunoensaios: fundamentos e aplicações*. 23ª ed. Guanabara Koogan. 2007.
74. NAOUM, P.F. Métodos De Avaliação Laboratorial.  
<<http://www.ciencianews.com.br/aulavirt/metodos.pdf>> Acesso em: 06 de nov. 2013.
75. TESTONI, N.W. Imunoensaios: Modelos de Testes.  
<[http://www.labvw.com.br/2008/material\\_cientifico/novos/Imunoensaios%20Naturalia%20Witzke%20Testoni.pdf](http://www.labvw.com.br/2008/material_cientifico/novos/Imunoensaios%20Naturalia%20Witzke%20Testoni.pdf)> Acesso em: 06 de nov. 2013.

76. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA.  
Tireóide, Doenças da: Utilização dos Testes Diagnósticos.  
<<http://www.tireoide.org.br/media/fotos/092.pdf>> Acesso em: 11 de nov. 2013.
77. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA.  
Hipotireoidismo. <<http://www.tireoide.org.br/media/fotos/17-Hipotireoidismo.pdf>> Acesso em: 11 de nov. 2013.
78. IDDAH, M.A.; MACHARIA, B.N. Autoimmune Thyroid Disorders. *ISRN Endocrinology*. 2013.
79. MEDEIROS-NETO, G.A., et al. Defective organification of iodide causing hereditary goitrous hypothyroidism. *Thyroid*, n. 3, p. 143-59. 1993.
80. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA.  
Tireoidite. < <http://www.endocrino.org.br/tireoidite/>> Acesso em 13 de Nov. 2013.
81. SURKS, M.I., et al. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *JAMA*, n. 291, p. 228-238. 2004.
82. PEARCE, E.N. Hypothyroidism and dyslipidemia: modern concepts and approaches. *Curr Cardiol Rep*, n. 6, p. 451-456. 2004.
83. ANDERSEN, S., et al. Narrow individual variations in serum T(4) and T(3) in normal subjects: a clue to understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 87, p. 1068-1072. 2002.
84. CHIN, W.W., et al. Thyroid hormone regulation of thyrotropin gene expression. *Recent Prog Horm Res*, n. 48, p. 393-414. 1993.
85. WARDLE, C.A.; FRASER, W.D.; SQUIRE, C.R. Pitfalls in the use of thyrotropin concentration as a first-line thyroid-function test. *Lancet*, n. 357, p. 1013-1014. 2001.
86. HOLLOWELL, J.G., et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*, n. 87, p. 489-499. 2002.

87. UY, H.L.; REASNER, C.A.; SAMUELS, M.H. Pattern of recovery of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis following radioactive iodine therapy in patients with Grave's disease. *Am J Med*, n. 99, p. 173-179. 1995.
88. BARTALENA, L. Recent achievements in studies on thyroid hormone-binding proteins. *Endocr Rev*, n. 11, p. 47-64. 1990.
89. CARVALHO, G.A., et al. Complete deficiency of thyroxine-binding globulin (TBG-CD Buffalo) caused by a new nonsense mutation in the thyroxine-binding globulin gene. *Thyroid*, n. 8, p. 161-165. 1998.
90. STOCKIGT, J.R. Free thyroid hormone measurement: a critical appraisal. *Endocrinol Metab Clin North Am*, n. 30, p. 265-289. 2001.
91. SARNE, D.H., et al. A new inherited abnormality of thyroxine-binding globulin (TBG-San Diego) with decreased affinity for thyroxine and triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 68, p.114-119. 1989.
92. CHOPRA, I.J. A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 34, p. 938-947. 1972.
93. SAKATA, S., et al. Prevalence of thyroid hormone autoantibodies in healthy subjects. *Clin Endocrinol*, n. 41, p. 365-370. 1994.
94. VYAS, S.K.; WILKIN, T.J. Thyroid hormone autoantibodies and their implications for free thyroid hormone measurement. *J Endocrinol Invest*, n. 17, p.15-21. 1994.
95. VANDERPUMP, M.P., et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*, n. 43, p. 55-68. 1995.
96. MARIOTTI, S., et al. A new solid-phase immunoradiometric assay for anti-thyroglobulin autoantibody. *J Endocrinol Invest*, n. 5, p. 227-233. 1982.
97. MARIOTTI, S., et al. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 71, p. 661-669. 1990.
98. MARCOCCI, C., et al. Thyroid ultrasonography helps to identify patients with diffuse lymphocytic thyroiditis who are prone to develop hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 72, p. 209-213. 1991.
99. TAKASU, N., et al. TSBAb (TSHstimulation blocking antibody) and TSAAb (thyroid stimulating antibody) in TSBAbpositive patients with hypothyroidism

and Graves' patients with hyperthyroidism. *Horm Metab*, n. 33, p. 232-237. 2001.

100. TAKASU, N., et al. Thyroidstimulating antibody and TSH-binding inhibitor immunoglobulin in 277 Graves' patients and in 686 normal subjects. *J Endocrinol Invest*, n. 20, p. 452-461. 1997.

101. CHIOVATO, L., et al. Incidence of antibodies blocking thyrotropin effect in vitro in patients with euthyroid or hypothyroid autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, n. 71, p. 40-45. 1990.