

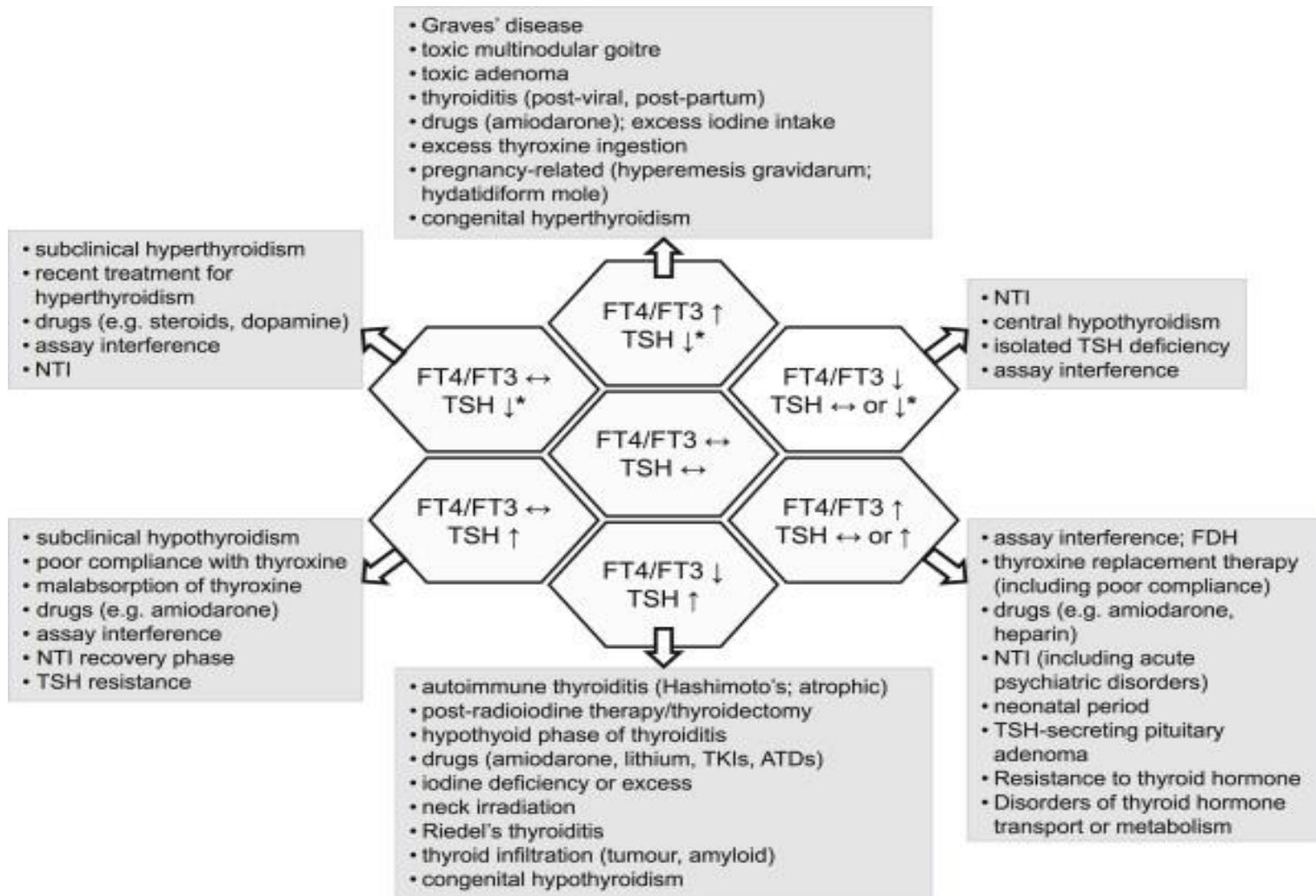
När tyreoideaproverna inte stämmer

BES 2019
Stockholm 28 mars 2019
I. Bartuseviciene
Klinisk kemi, KUL

Automatiserade immunkemiska metoder

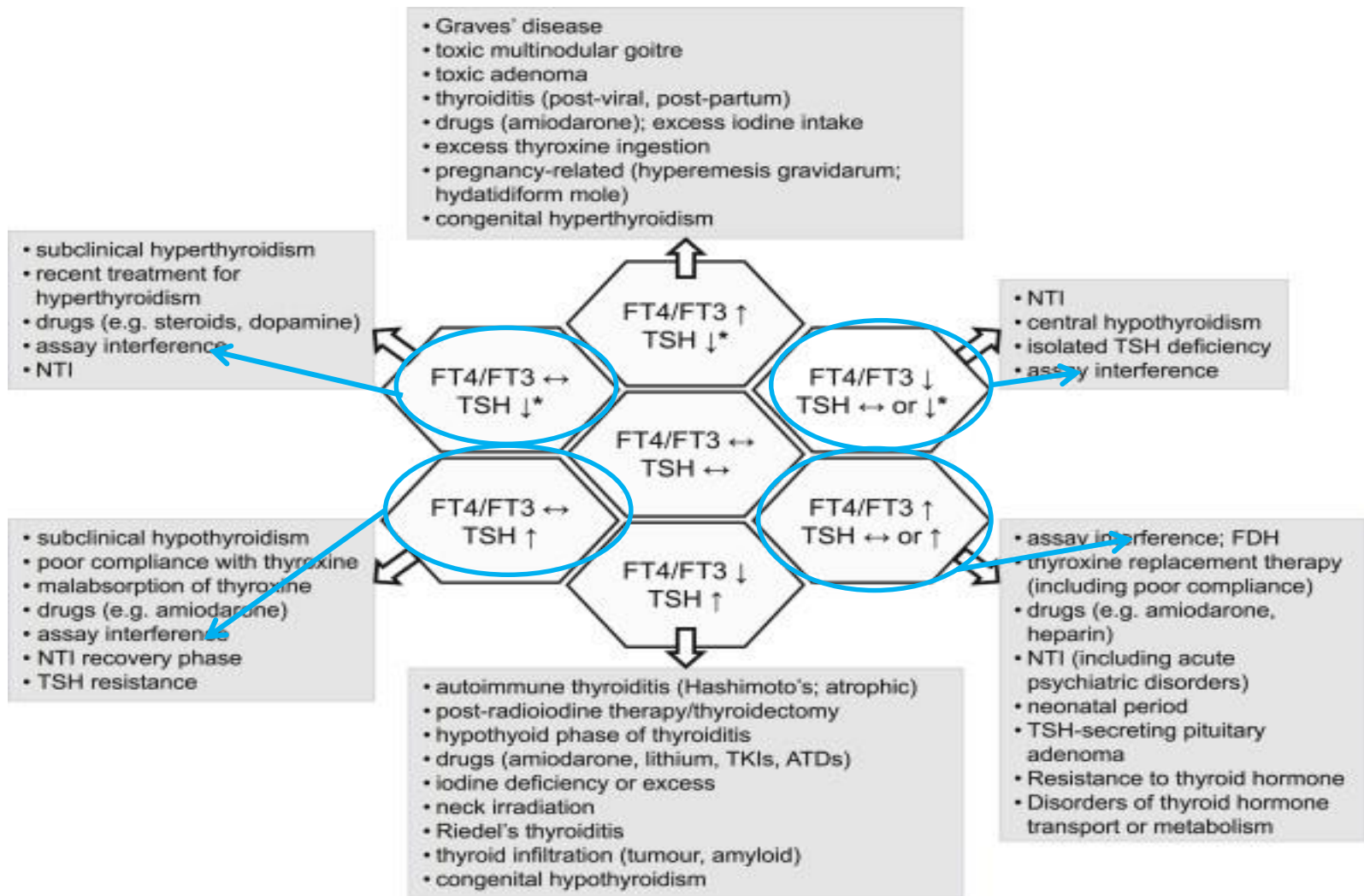
- Fördelar :
 - God känslighet
 - God precision
 - Snabb mätning

- Nackdelar :
 - Störning i bildning / separation av immunkomplex (tex vid förekomst av störande antikroppar)leder till felaktiga resultat
 - Resultatkonstellation kan följaktigen efterlikna patologiska endokrina tillstånd (exvis hypotyreos, hypertyreos, vitD-intox, PTH-suppression)
 - Korsreaktivitet med metaboliter (ffa för steroidanalyter)



Pitfalls in the measurement and interpretation of thyroid function tests.

Koulouri O et al Best Practice & Research Clinical Endocrinology. Volume 27, Issue 6, 2013



Pitfalls in the measurement and interpretation of thyroid function tests.

Koulouri O et al Best Practice & Research Clinical Endocrinology. Volume 27, Issue 6, 2013

TYREOIDEA STATUS

Sandwich	Kompetitiv
TSH	FT4, FT3
Tyreoglobulin TG, TG-ak	Totalt T4 och T3
	TPO-ak
	TRAK

AVVIKANDE VÄRDEN

↑ TSH , ↔ FT4	<ul style="list-style-type: none"> Analytisk interferens i TSH-assay Makro-TSH 	HAAA, RF
↓TSH , ↔ FT4	Analytisk interferens i TSH-assay	HAAA, RF
↔TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	Analytisk interferens i FT4 / FT3 assay	
↔TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	<ul style="list-style-type: none"> NEFA 	In-vitro hos heparinbehandlade pat
↔TSH, ↑↓FT4,FT3 (metodberoende)	<ul style="list-style-type: none"> Competitors 	Furosemid , salicylater, diklofenak
↔TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	<ul style="list-style-type: none"> FDH 	Familiär dysalbuminemisk hypertiroxinemi
↓TSH , ↑ FT4	Interferens i biotin-streptavidin assays.	Intag av biotin. Streptavidin-ak

Heterofila antikroppar :

- Multispecifika, produceras i kroppen som svar mot brett spektrum av komponenter (mikrober, animaliska immunogener, autoimmunisering).
- HAAA (human anti-animal antibodies) uppstår efter tex intag av immunosuppresanter som innehåller animaliska Ig eller exponering för olika djur (tex hos lantbrukare). Kan vara antimus – HAMA, antikanin – HARA osv (beskrivs anti-bovina, anti-get och anti-får). HAMA förekommer oftare hos cancersjuka.
- HA binder till antikroppar av animalisk härkomst som finns i assay reagens. HAMA är mest kända eftersom de interfererar oftast i immunoassays där används antikroppar av murin härkomst.
- Incidensen av interferens skattas som ganska liten : från 0,4% till 4,0 %.
- Beroende på assaytyp, stereokemi och kinetik kan heterofila antikroppar orsaka antingen falskt låga eller falskt höga eller oförändrade resultat av samma analyt i samma prov mätt med olika assays.

TSH-stegring pga makro-TSH eller HAAA

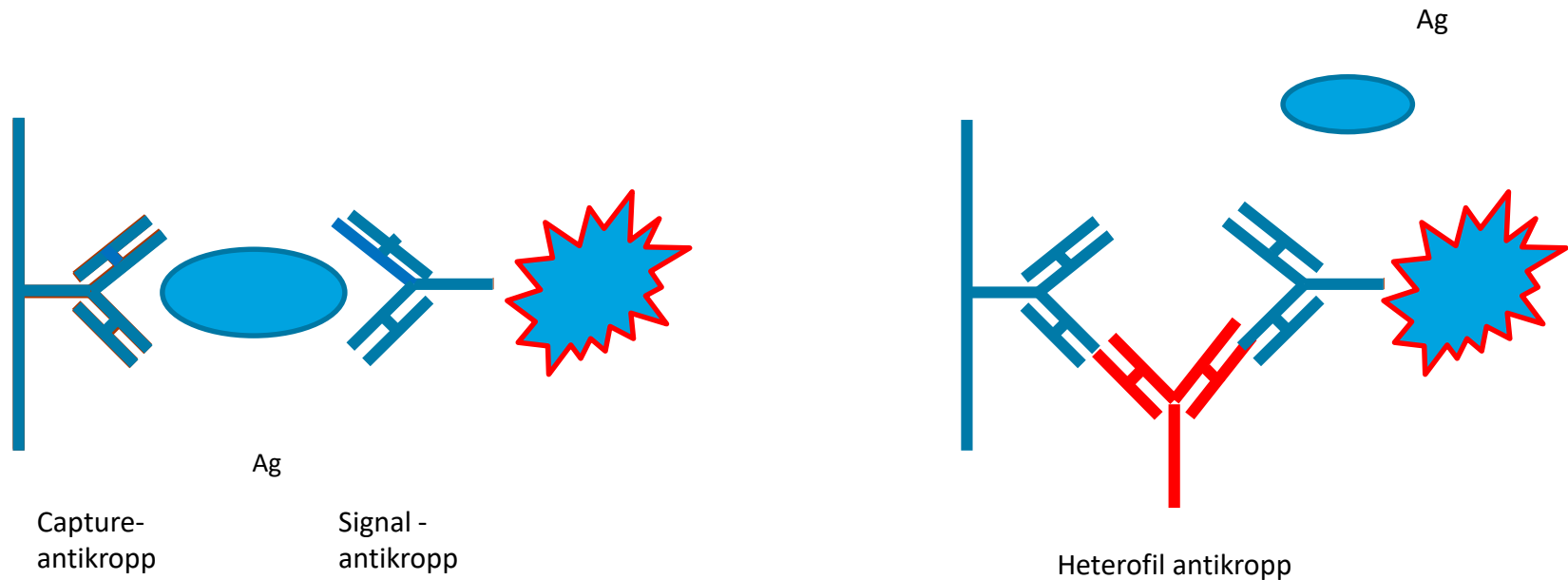
Makro-TSH:

- Cirkulerande makrokomplex av TSH och IgG.
- Biologiskt inaktiv, dock orsakar stegrade TSH-värden vid mätning med immunkemiska metoder. Olika plattformar är olika känsliga för fenomenet.
- Prevalensen oklar. Enligt vissa författare c:a 0,6%
- TSH-värde normaliseras efter PEG-fällning (som vid makroprolaktinemi).

HAAA-interferens :

- Uppstår in vitro , när HAAA överbryggas antikroppar vid reaktion och skapar immunkomplex.
- TSH-värde normaliseras efter PEG-fällning.

HAAA-interferens i sandwich-assay



Det ospecifika antigenet "överbryggar" capture-antikroppen med signal-antikroppen. Positiv signal erhålls trots frånvaro av antigen. Resultat : överestimering av värde (exvis TSH)

Fall 1, pojke f. 2004

Stegrat TSH (mellan 7,0 och 12) i kombination med FT4 inom referensområde sedan 2013.

Insättning av Levaxin 50 µg / dag i juni 2018, efter det TSH : 13 - 9,9 - 9,8 - 9,5 med stigande FT4 till 29 pmol/L och FT3 till 8,0 pmol/L i januari 2019 (då med 175 µg / dag)

Misstanke på analytisk interferens .

Fall 1, pojke f. 2004

2019.01.16	Resultat	Refintervall	Enhet
TSH (Access)	0,02*	0,4-4,0	mE/L
TSH (Cobas)	11*	0,5-4,3	mE/L
TSH (Delfia)	0,01*	0,2-4,0	mE/L
FT4 (Access)	17*	8-14	pmol/L
FT4 (Cobas)	23*	13-21	pmol/L
FT4 (Delfia)	21*	10-20	pmol/L
FT3 (Access)	6,0	3,5-6,0	pmol/L
FT3 (Cobas)	7,3	3,9-7,7	pmol/L
FT3 (Immulite)	5,0	2,3-6,3	pmol/L
Totalt T4	141	60-141	nmol/L
Totalt T3	2,4	1,1-2,5	nmol/L

Fall 1, pojke f. 2004

Stegrat TSH (mellan 7,0 och 12) i kombination med FT4 inom referensområde sedan 2013.

Insättning av Levaxin 50 µg / dag i juni 2018, efter det TSH : 13 - 9,9 - 9,8 - 9,5 med stigande FT4 till 29 pmol/L och FT3 till 8,0 pmol/L i januari 2019 (då med 175 µg / dag)

Misstanke på analytisk interferens .

Efter PEG-fällning :

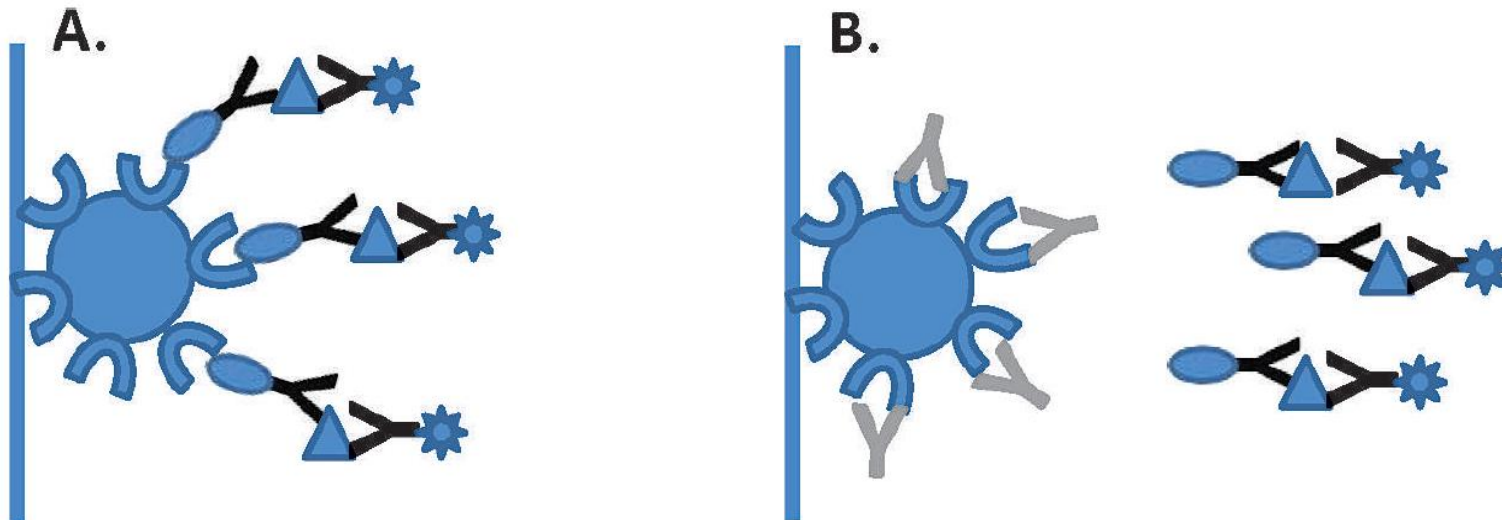
TSH (Cobas) – 0,06 mE/L





TSH (Delfia) – 0,01 mE/L

AVVIKANDE VÄRDEN

↑ TSH , ↔ FT4	<ul style="list-style-type: none"> Analytisk interferens i TSH-assay Makro-TSH 	HAAA, RF
↓TSH , ↔ FT4	Analytisk interferens i TSH-assay	HAAA, RF
↔TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	Analytisk interferens i FT4 / FT3 assay	
↔TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	<ul style="list-style-type: none"> NEFA 	In-vitro hos heparinbehandlade pat
↔TSH, ↑↓FT4,FT3 (metodberoende)	<ul style="list-style-type: none"> Competitors 	Furosemid , salicylater, diklofenak
↔TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	<ul style="list-style-type: none"> FDH 	Familiär dysalbuminemisk hypertyroxinemi
↓TSH , ↑ FT4	Interferens i biotin-streptavidin assays.	Intag av biotin. Streptavidin-ak

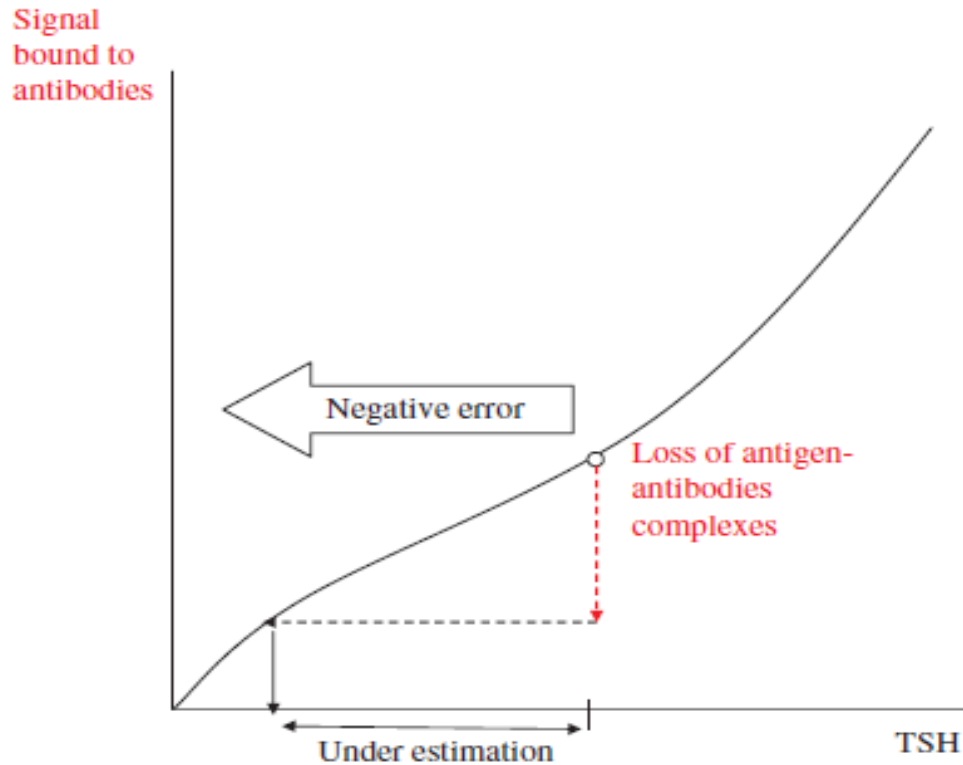
Interfererande anti-streptavidin antikroppar Sandwich-assay



	Streptavidin coated microparticle, captured on magnetic solid phase		Biotinylated reagent antibodies, with analyte bound
	Chemiluminescent signal, conjugated to reagent antibody or competing reagent analyte		Anti-streptavidin interfering antibody

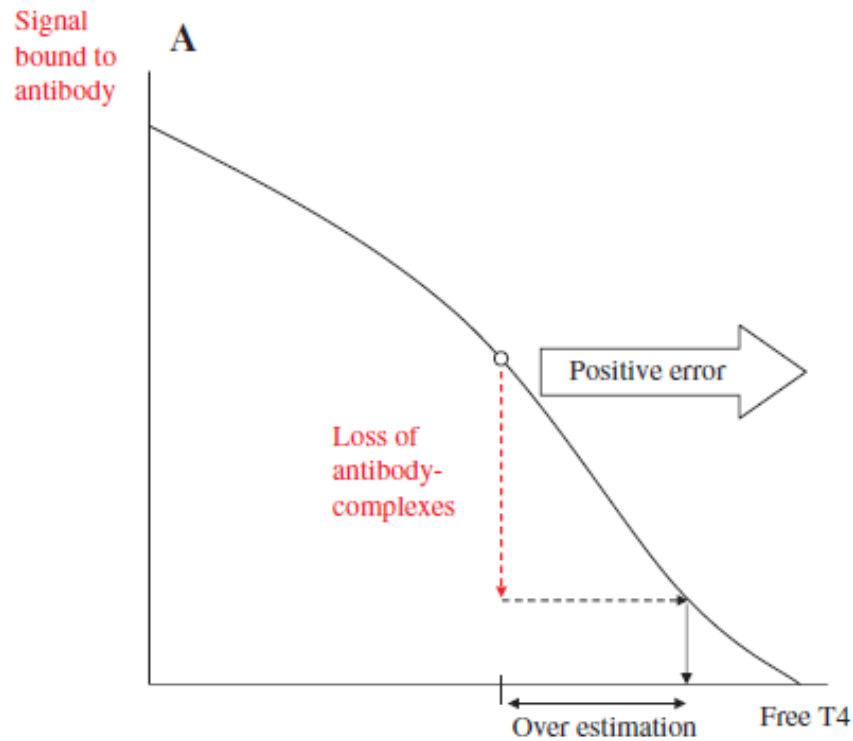
Nichole Johnson Rulander et al.
Arch Pathol Lab Med. 2013

Underestimering av analytkoncentration i sandwich-assay



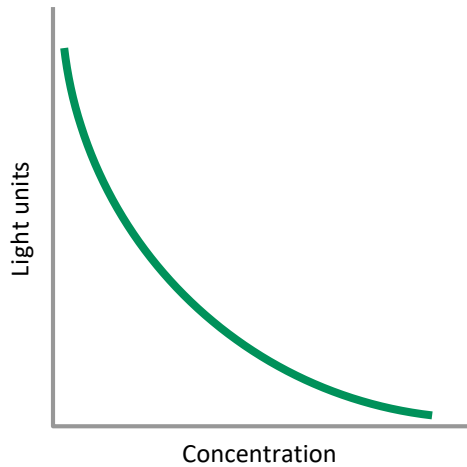
Piketty M et al.CCLM, 2017

Överestimering av analytkoncentration i kompetitiv assay

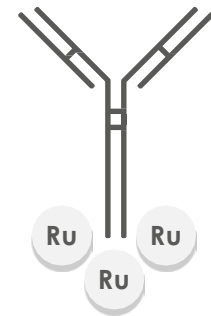
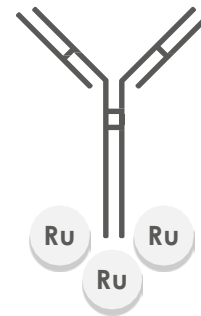
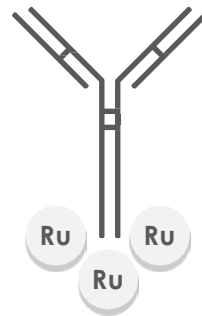


Piketty M et al.CCLM,
2017

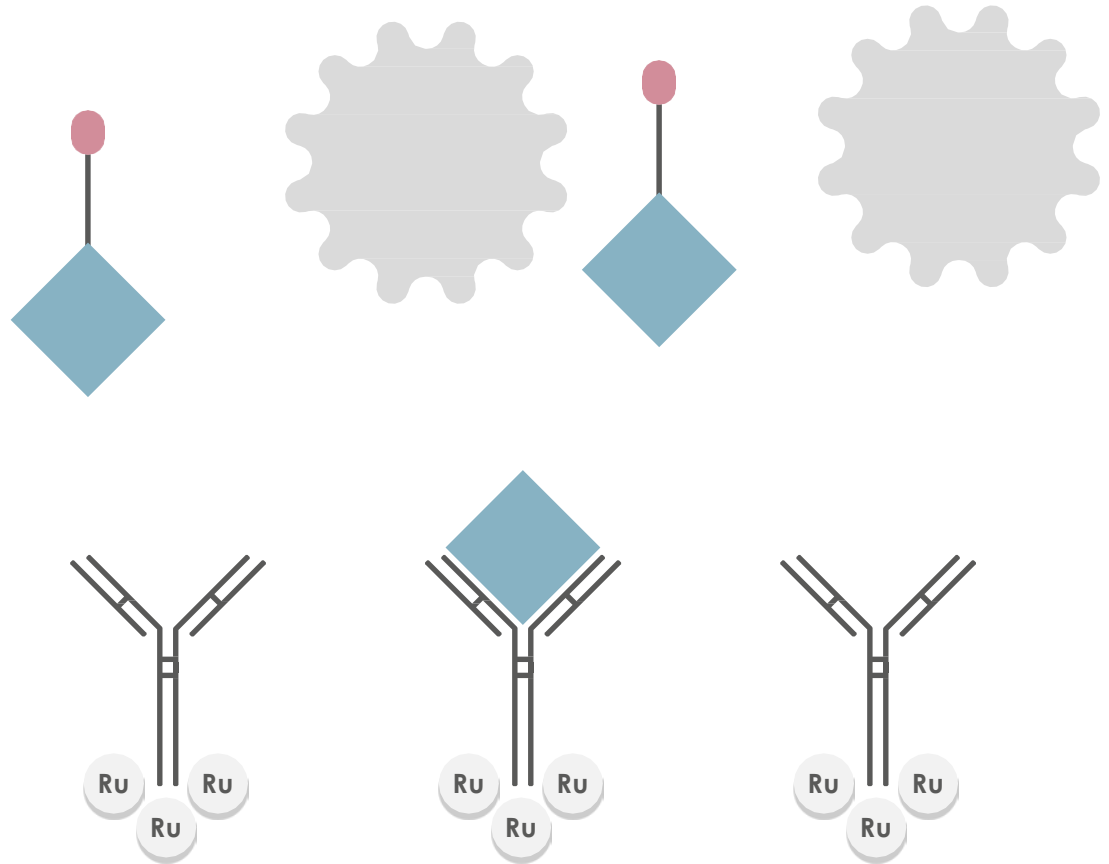
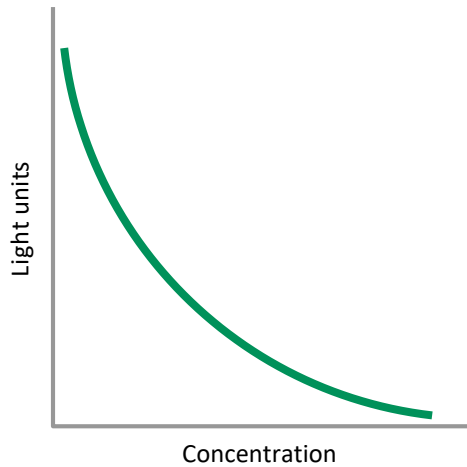
FT4 reaction principle



Patient sample with free T4 is incubated with T4-specific antibodies labelled with a Ruthenium complex

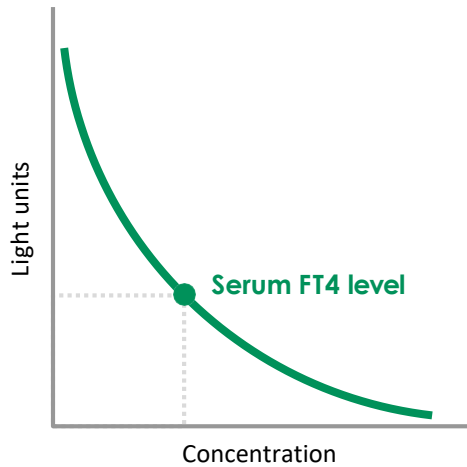


FT4 reaction principle

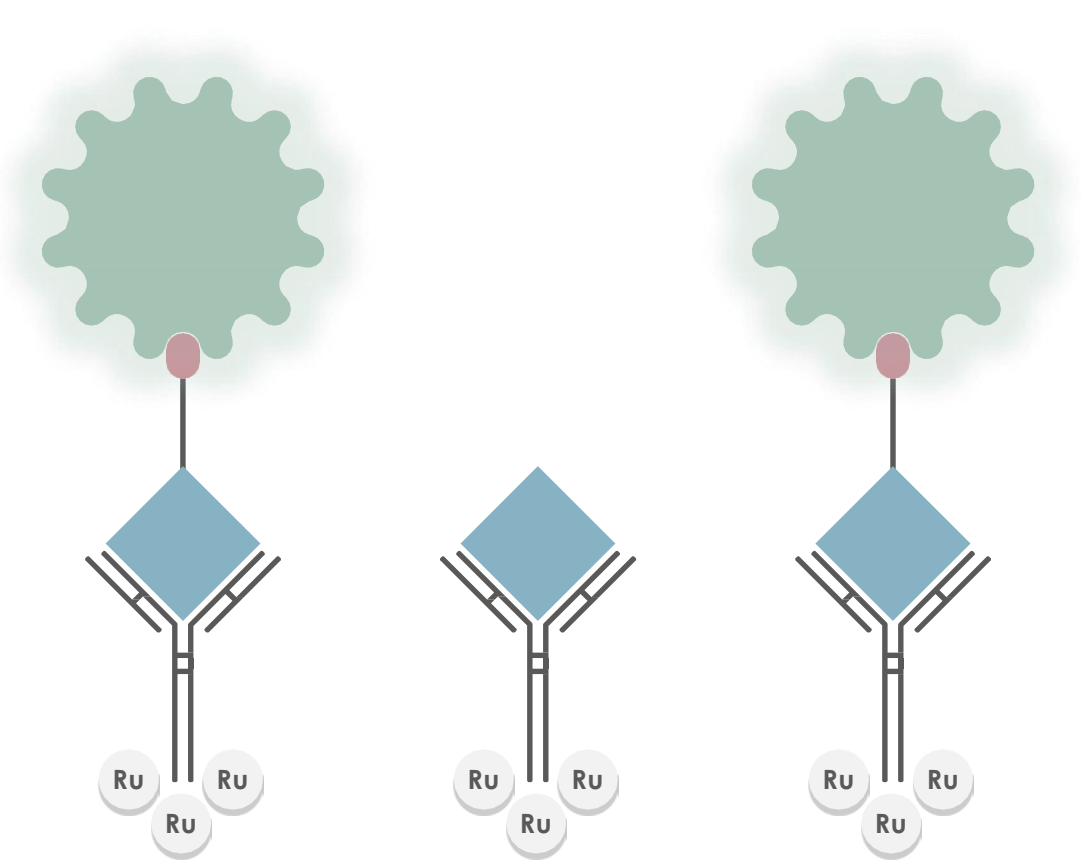


After addition of streptavidin-coated microparticles and biotinylated FT4, free binding sites of the labelled antibodies become occupied, forming a complex.

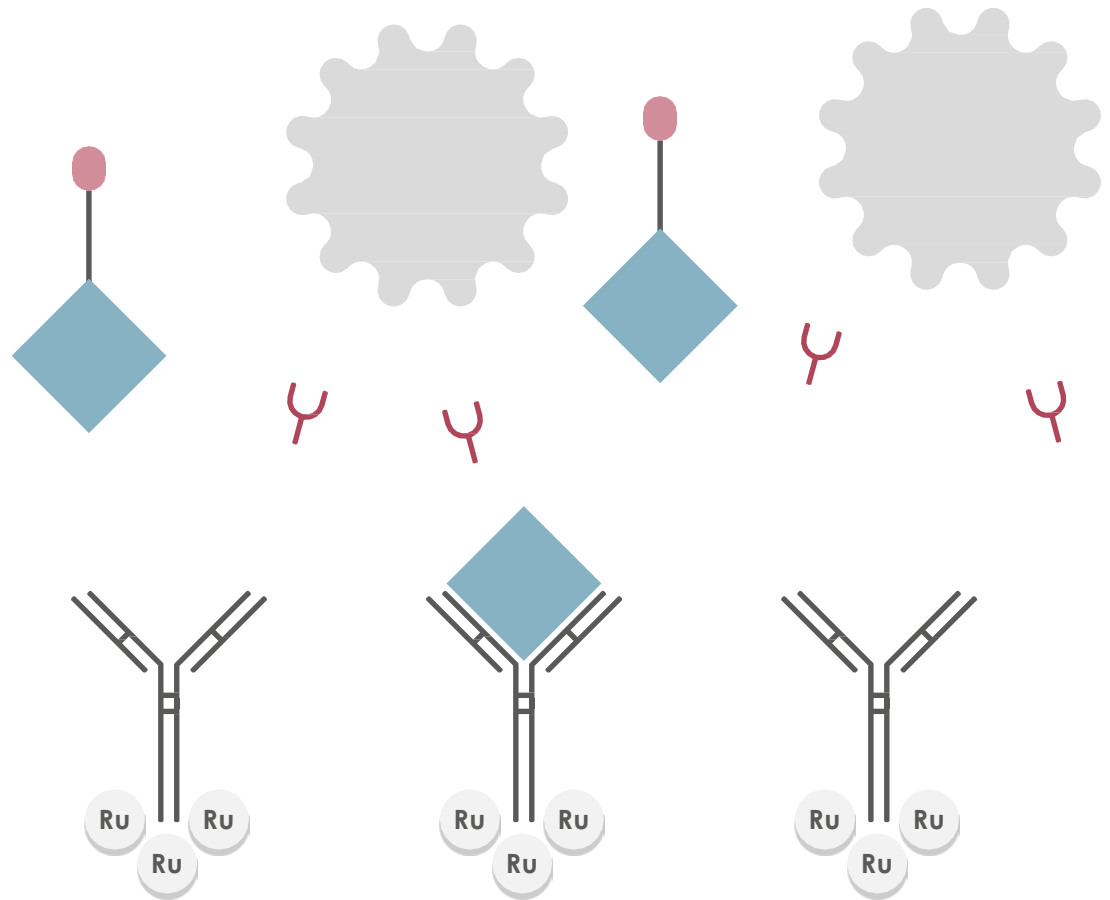
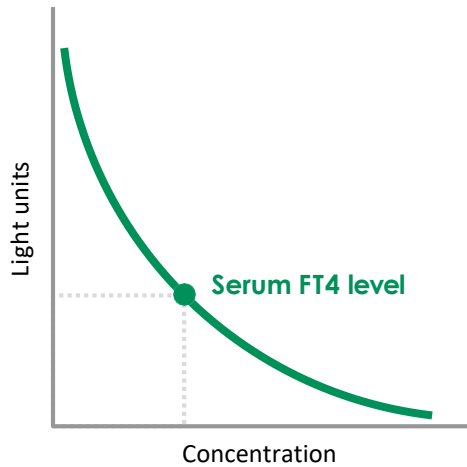
FT4 reaction principle



Application of a voltage produces the light signal, which varies inversely with the concentration of free FT4 in the sample.

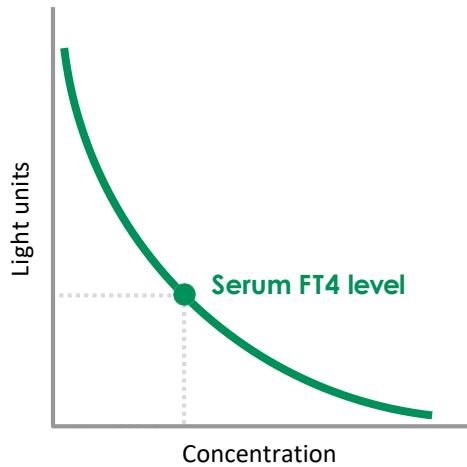


Interference from Anti-SA factors (IgG or IgM)

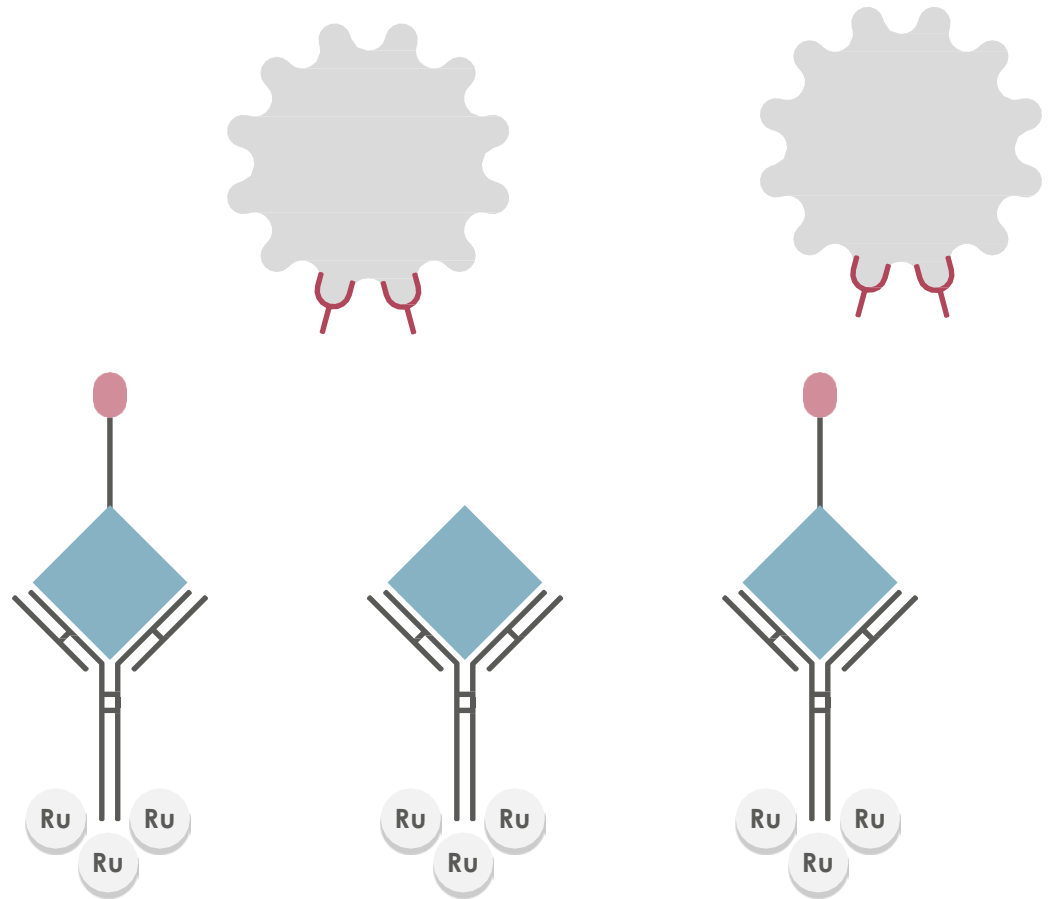


The streptavidin (SA) is masked by unspecific Anti-SA interference factor, therefore, the biotin-T4-antibody complex is hindered from generating a signal.

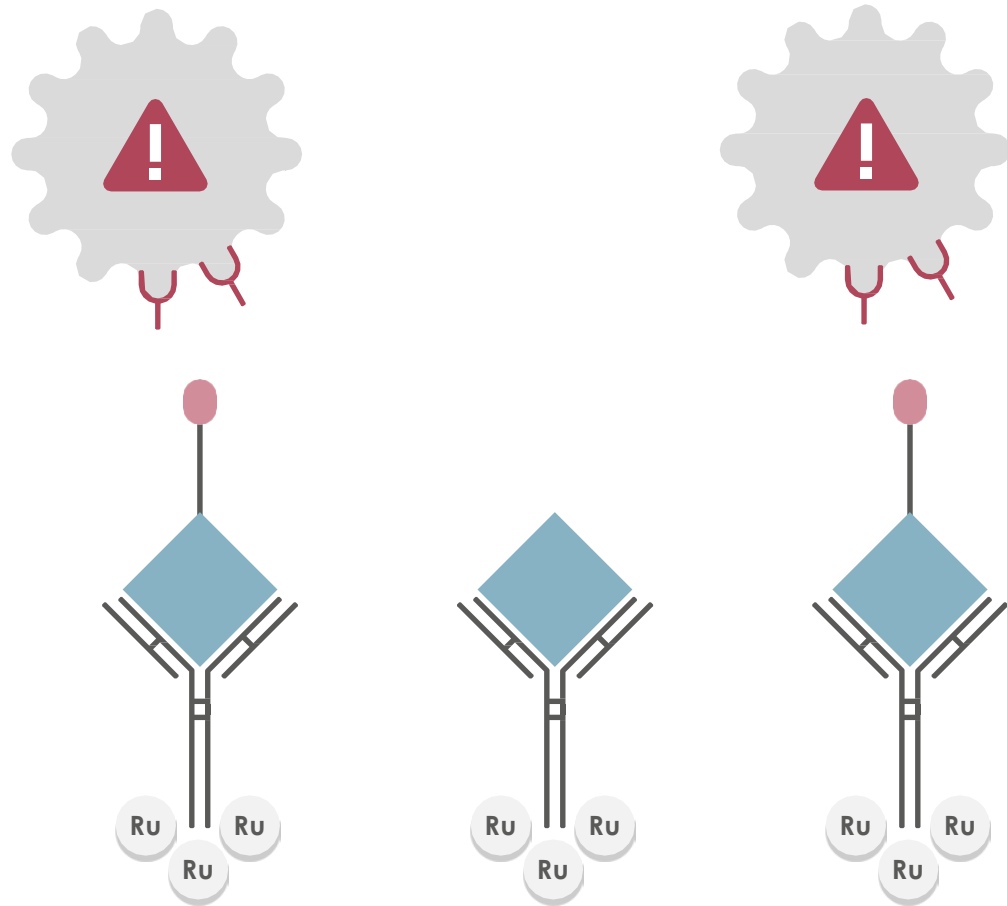
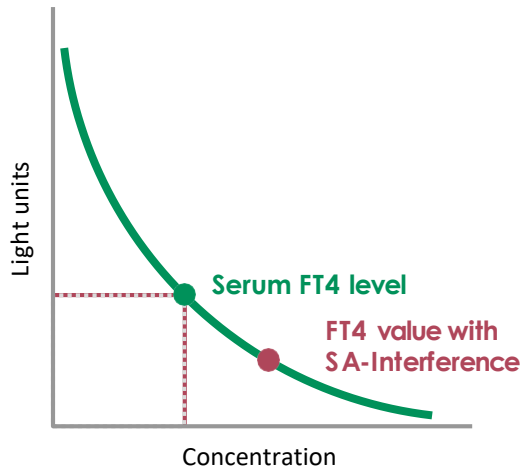
Interference from Anti-SA factors (IgG or IgM)



The streptavidin (SA) is masked by unspecific Anti-SA interference factor, therefore, the biotin-T4-antibody complex is hindered from generating a signal.

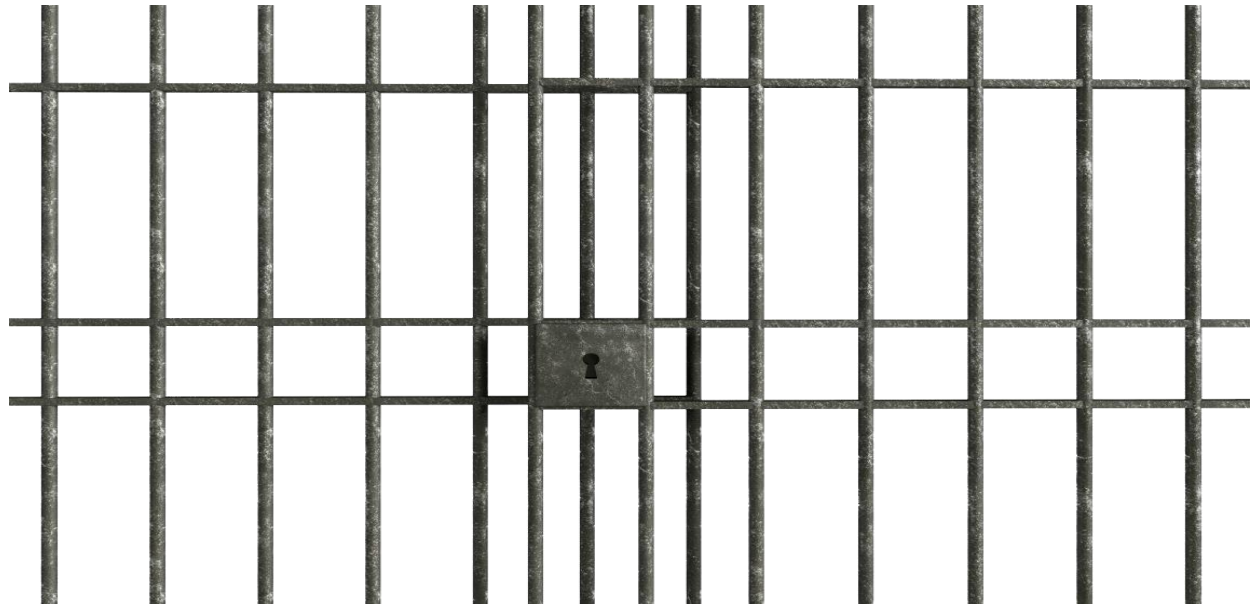
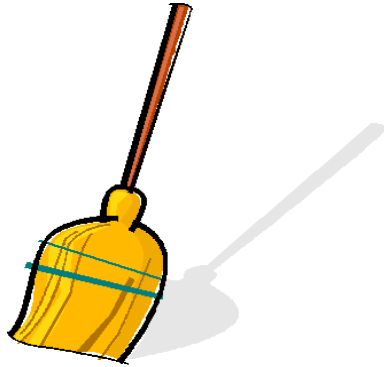


Interference from Anti-SA factors (IgG or IgM)



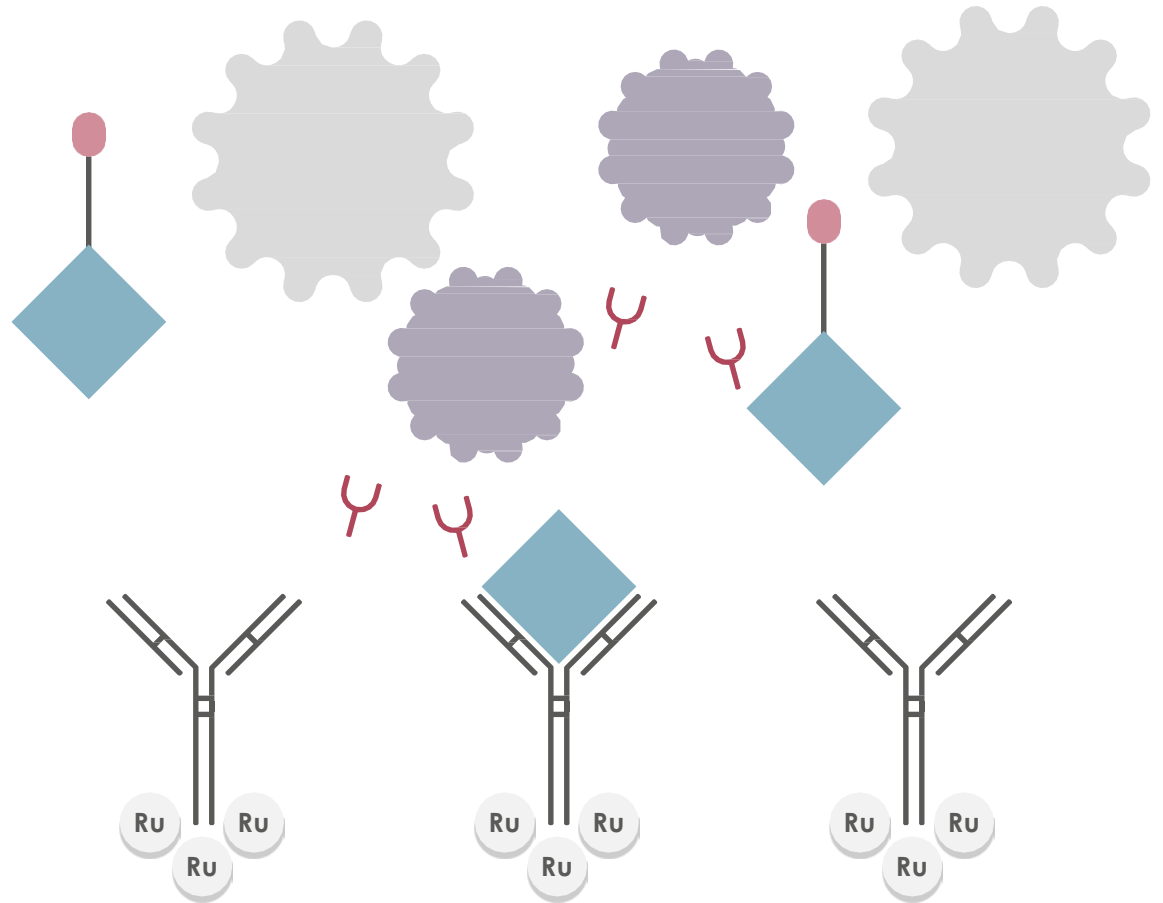
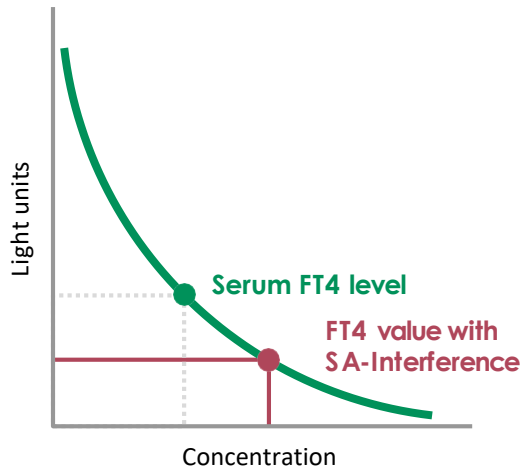
For the competitive FT4 assay this leads to a falsely elevated result. The FT3 test is affected in a similar manner.

Åtgärder ?



Elecsys FT4 III solution

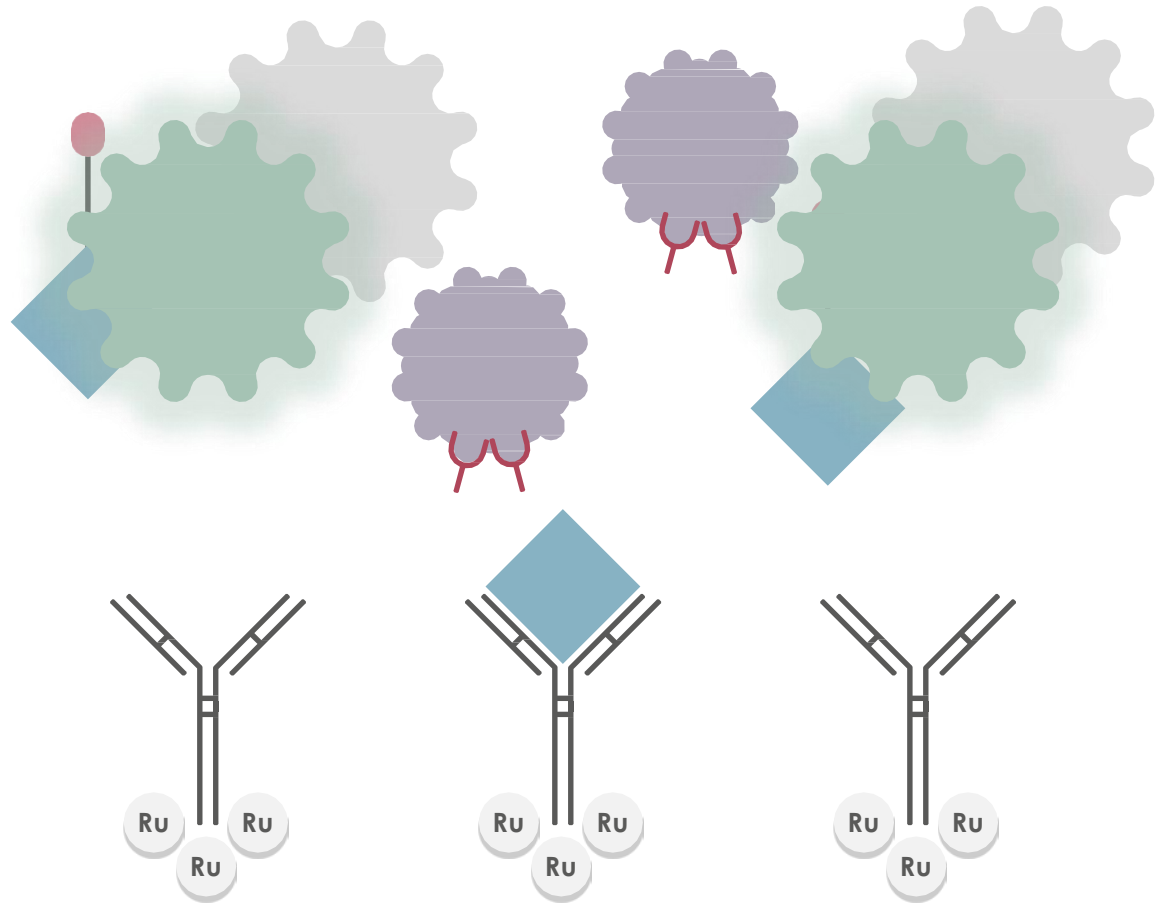
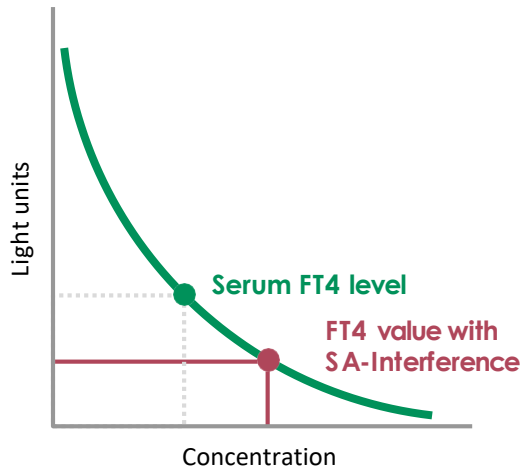
Use of new blocking agent



The blocking agent is a protein that captures the anti-SA interference factor in the patient serum.

Elecsys FT4 III solution

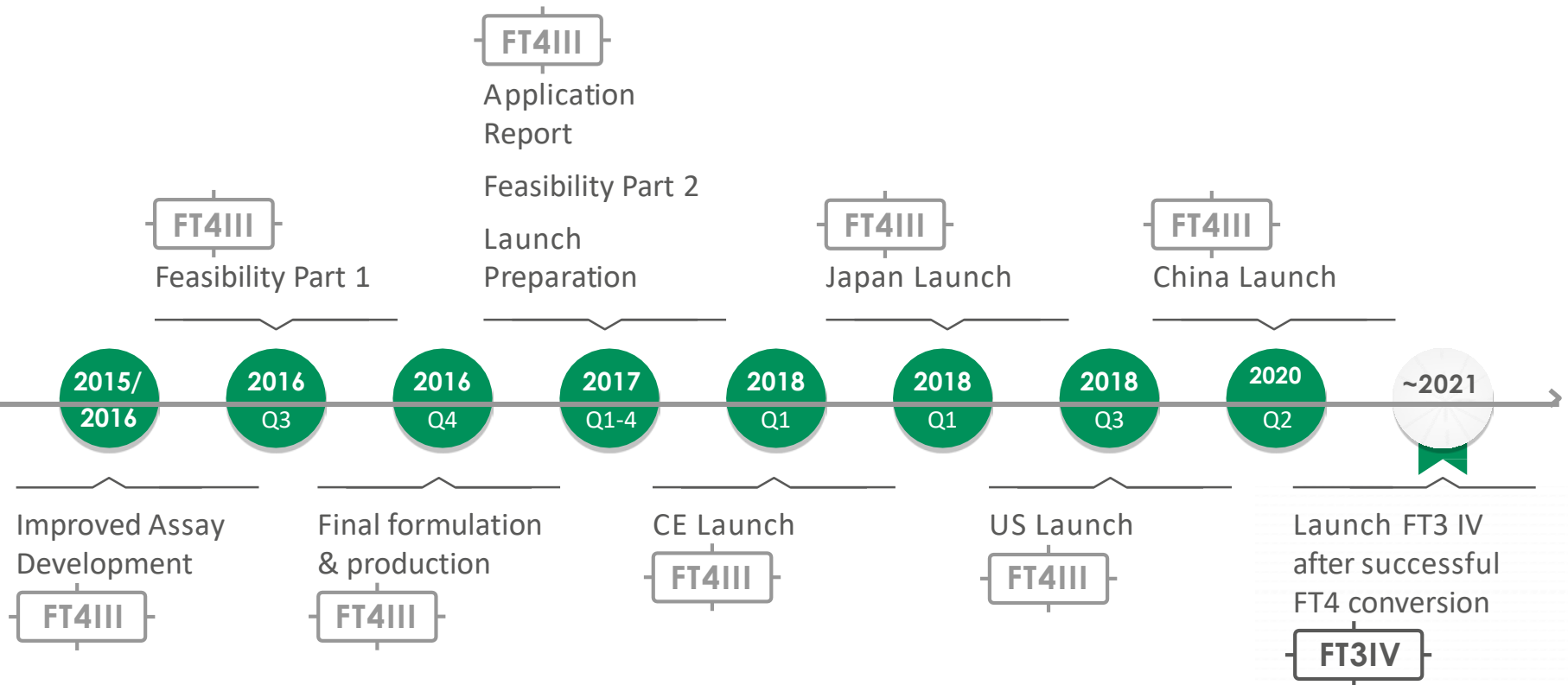
Use of new blocking agent



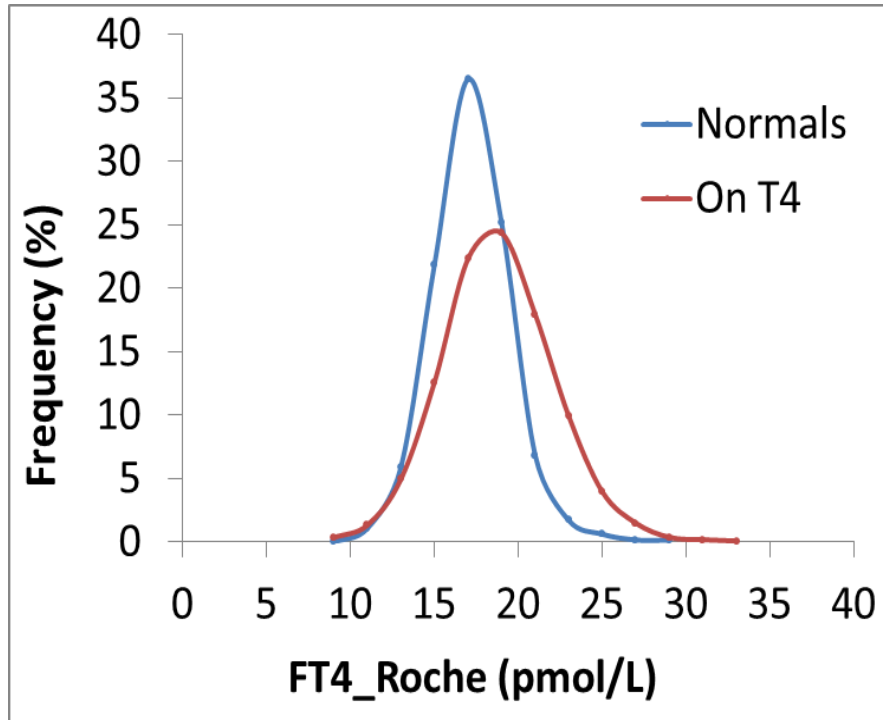
Changing the blocking agent significantly reduced interference.

Development timelines FT4 III and FT3 IV assays

Responding to customers and improving against interference



Reference range FT4 apparently healthy vs FT4 under thyroxine *treatment*



- Roche published reference limits (97.5% @ 22pmol) validated with n = >40,000
- Treated population demonstrate peak-shift within euthyroid range with 97.5% approaching 28 pmol.

Reference range



FT4 apparently healthy vs FT4 under thyroxine treatment

Quantiles for FT4 LIFE data

	95p CI low (2.5% quant.)	2.5% quant.	95p CI high (2.5% quant.)	95p CI low (50% quant.)	50% quant.	95p CI high (50% quant.)	95p CI low (97.5% quant.)	97.5% quant.	95p CI high (97.5% quant.)	N	Year of publ.
		pmol/L			pmol/L			pmol/L			
Elecsys FT4 package insert		12						22		801	1998
all sd healthy patients	11.75	11.89	12.01	15.53	15.59	15.66	19.78	19.95	20.24	4617	2013
all male patients (sd healthy)	11.71	11.97	12.2	15.64	15.73	15.83	19.85	20.2	20.5	2702	2013
male < 40 years	9.56	12.85	13.55	15.92	16.175	16.53	19.8	20.64	21.75	146	2013
male >= 40 and < 70 years	11.65	11.94	12.22	15.58	15.7	15.82	19.71	20.12	20.48	1987	2013
male >= 70 years	11.28	11.99	12.27	15.58	15.73	15.93	19.82	20.45	21.47	569	2013
all female patients (sd healthy)	11.66	11.81	11.99	15.31	15.4	15.49	19.27	19.62	20	1915	2013
female < 40 years	10.59	11.79	11.95	14.64	15.11	15.43	18.49	19.78	20.83	130	2013
female >= 40 and < 70 years	11.53	11.79	11.92	15.2	15.31	15.42	18.97	19.46	19.97	1447	2013
female >= 70 years	11.6	12.34	12.79	15.8	15.975	16.25	19.33	20.11	21.97	338	2013

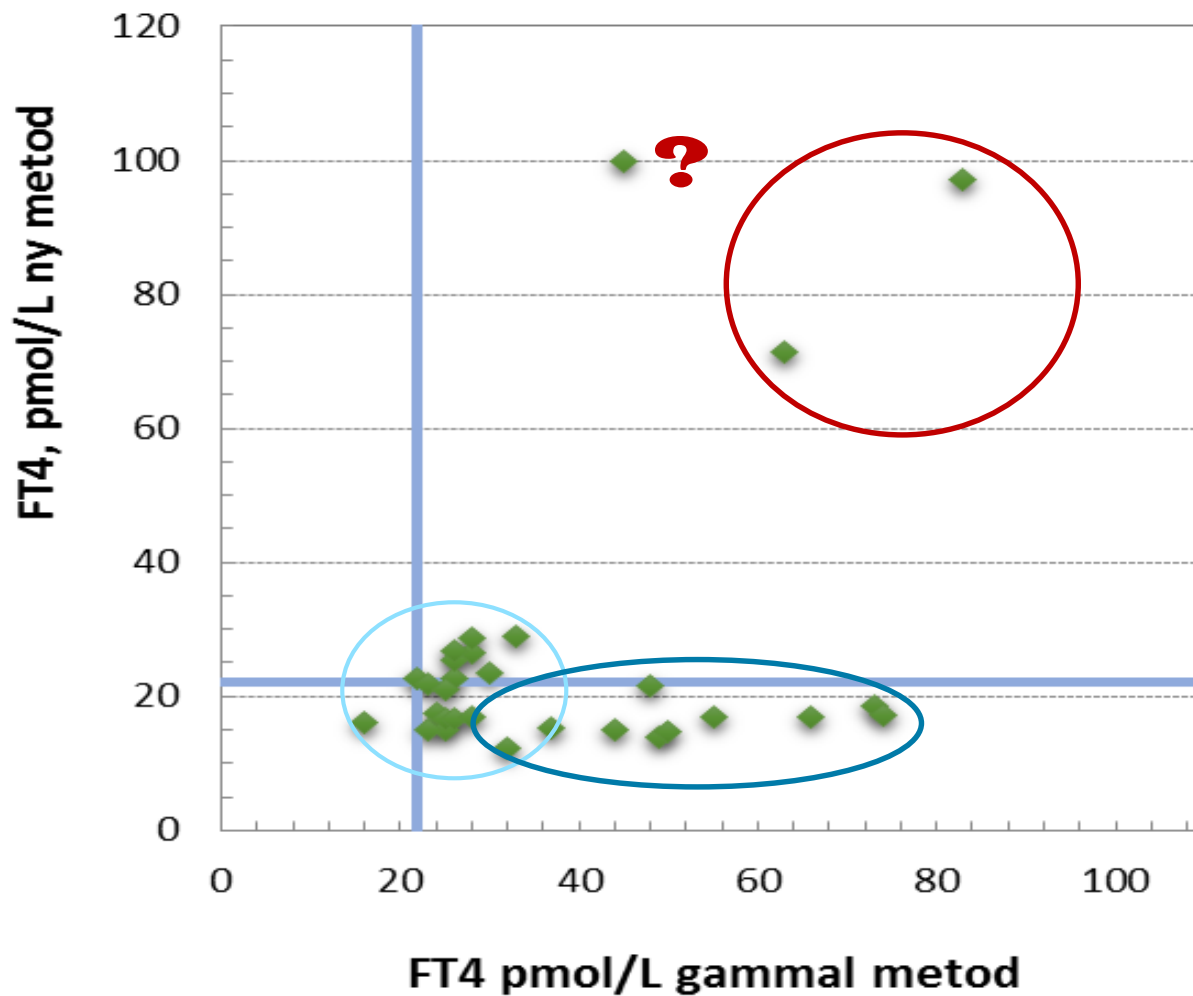
Quantiles for FT4 T4 Medication (euthyroid TSH, Anti-TPO negative)

	95p CI low (2.5% quant.)	2.5% quant.	95p CI high (2.5% quant.)	95p CI low (50% quant.)	50% quant.	95p CI high (50% quant.)	95p CI low (97.5% quant.)	97.5% quant.	95p CI high (97.5% quant.)	N	Year of publ.
all patients with T4 medication	13.43	13.71	14.05	18.67	18.91	19.19	25.82	26.46	28.12	1093	2013
all male patients (with T4 medication)	12.69	13.91	14.67	18.79	19.44	20.02	26.85	28.42	32.82	202	2013
male < 40 years	16.23	16.23	19.68	16.23	17.305	19.68	16.23	19.68	19.68	4	2013
male >= 40 and < 70 years	12.69	14.56	14.78	18.37	19.335	20.1	26.85	29.74	32.27	134	2013
male >= 70 years	13.61	13.61	32.82	18.79	19.71	20.45	13.61	25.49	32.82	64	2013
all female patients (with T4 medication)	13.34	13.71	14.05	18.63	18.8	19.11	25.66	26.01	27.12	891	2013
female < 40 years	14.49	14.49	24.1	17.52	18.555	20.54	14.49	24.1	24.1	22	2013
female >= 40 and < 70 years	13.21	13.69	14.11	18.6	18.83	19.19	25.45	25.83	26.85	660	2013
female >= 70 years	12.1	13.71	14.18	18.31	18.79	19.3	25.67	27.82	30.64	209	2013

Source: LIFE Study data, Leipzig, Germany 2016



Interferensprover



Fall 2

Kvinna f. 1958

Tyreoidektomi pga cancer för 15 år tillbaka

Välsubstituerad med Levaxin, kliniskt eutyreoid

Vid rutinkontroll december 2016 :

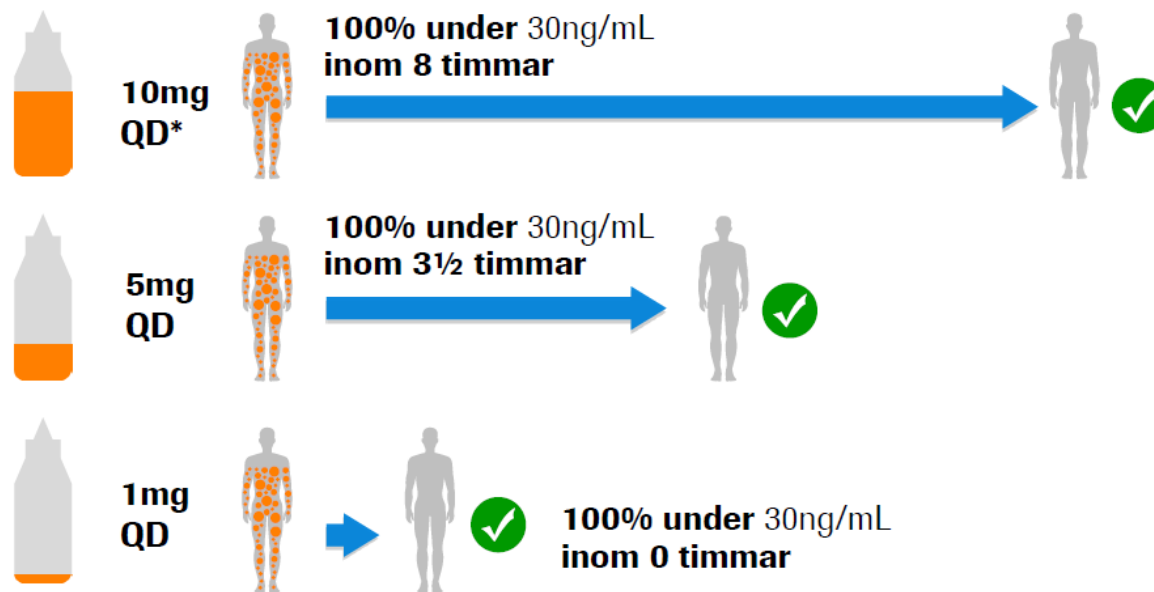
- nedpressat TSH,
- stegrat FT4

Inga uppenbara hypertyreossymptom, Levaxin sätts ut. Utredning påbörjas.

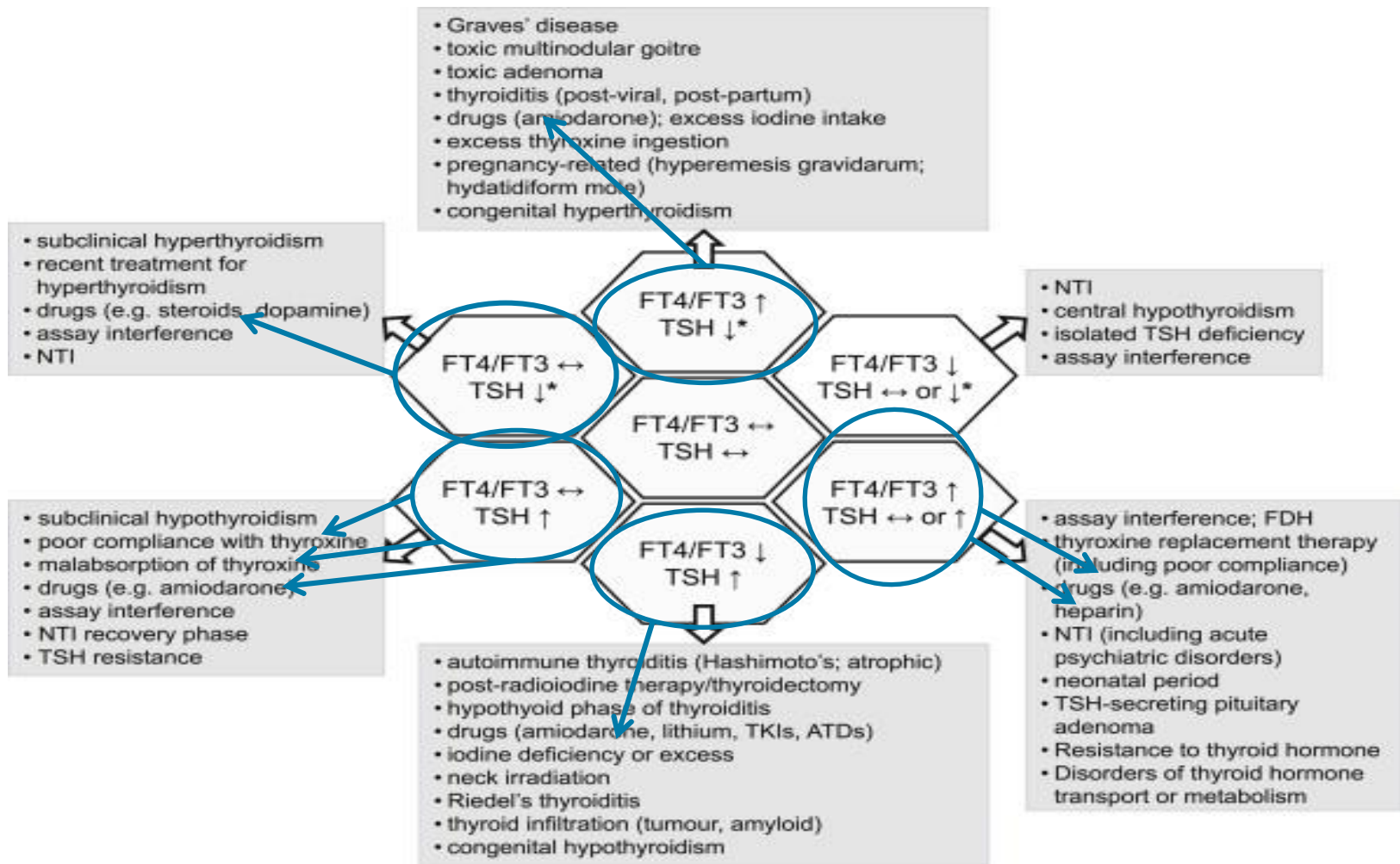
Fall 2, kvinna f. 1958

	Dec 2016	2017-03-14	2017-05-05	2017-07-25	Ref-intervall	Enhet
TSH (Access)		51	19	3,9	0,4-3,5	mE/L
TSH (Cobas)	↓	0,7	0,3	3,8	0,3-4,2	mE/L
TSH (Delfia)		66	17	3,9	0,2-4,0	mE/L
FT4 (Access)		36	>75	17	8-14	pmol/L
FT4 (Cobas)	↑	44	>100	18	12-22	pmol/L
FT4 (Delfia)		5,0	15	14	10-20	pmol/L
FT3 (Access)		6,7	8,7	3,8	3,5-5,4	pmol/L
FT3 (Cobas)		18	23	5,5	3,1-6,8	pmol/L
FT3 (Delfia)		3,2	4,9	5,6	4,5-7,5	pmol/L
Totalt T4		42	132	131	60-140	nmol/L
Totalt T3		0,7	1,7	1,8	1,1-2,5	nmol/L

Biotinintag vs analysresultat



*Doser > 10 mg: potentiell interferens med vissa metoder



Pitfalls in the measurement and interpretation of thyroid function tests.

Koulouri O et al Best Practice & Research Clinical Endocrinology. Volume 27, Issue 6, 2013

LÄKEMEDELSPÅVERKAN I

Påverkan på sekretion av tyreoideahormoner hos eutyreoida

<u>Iod-preparat</u>	1. ↑ TSH , ↓ FT4	Hypothyreos hos AIT. OBS ! Radiologisk kontrast
	2. ↓ TSH , ↑ FT4	Hypertyreos vid preexisterande MNS
<u>Amiodaron</u>	1. ↑ TSH, ↑ FT4	Övergående , DIO1 -blokad
	2. ↓ TSH , ↑ FT4	2 typer av tyreotoxikos, OBS ! Destruktiv tyreoidit
	3. ↑ TSH , ↓ FT4	Hypothyreos . OBS ! Pat med TPO-ak
<u>Lithium</u>	1. ↑ TSH , ↓↔ FT4	(Subklinisk) hypothyreos
	2. ↓ TSH , ↑ FT4	Övergående tyreoidit
<u>TKI</u>	1. ↑ TSH, ↓ FT4	Primär hypothyreos (Sunitinib, Sorafenib)
	2. ↓ TSH , ↑ FT4	Övergående tyreotoxikos
<u>Immuno-modulatorer</u>	1. ↓ TSH, ↑ FT4	Grave's sjd vid intag av Alemtuzumab (MS), HAART (HIV), INFα (hepatit C)
	2. ↑ TSH, ↓ FT4	Hashimoto tyreoidit (± tox prodrom) INFα

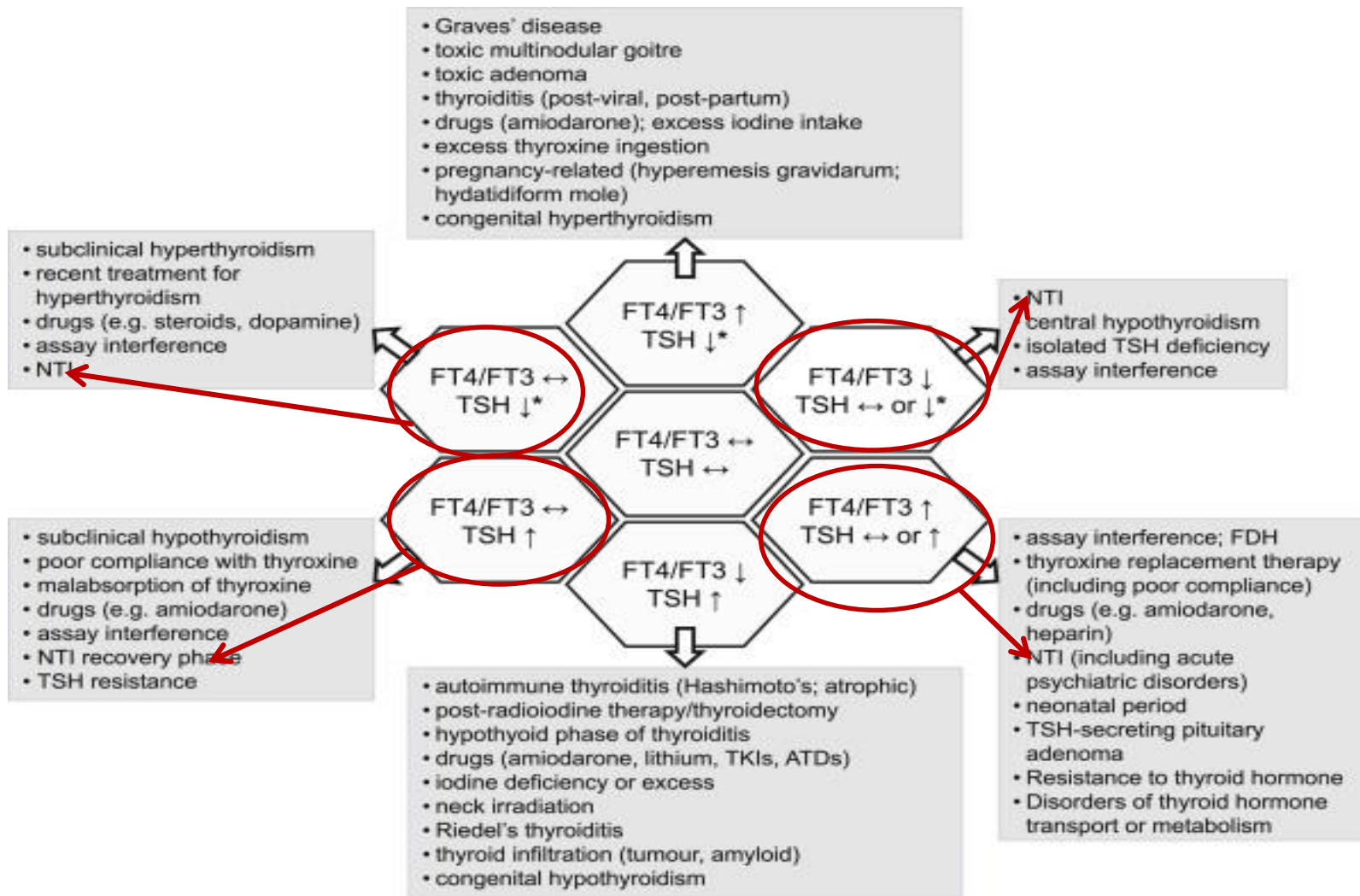
LÄKEMEDELSPÅVERKAN II

Påverkan på TSH-utsöndring		
<u>Dopamin-agonister</u>	↓ TSH (överg), ↔↓FT4	OBS ! Vid NTI – riktig hypotyreos
<u>Glukokortikoider</u>	↓ TSH (överg), ↔↓FT4	Blokerar sintes/ utsöndring av TRH. Dock ej vid chronisk endogen hyperkortisolism
<u>Somatostatin-analoger</u>	↓ TSH (överg), ↔↓FT4	Övergående effekt
<u>Rexinoider</u>	↓ TSH ,↓FT4	Bexarotene via TSHβ transkription och TH-metabolism - hypotyreos
<u>Metformin</u>	↓ TSH , ↔FT4	??? Oklart, men observationer finns
<u>Neuropsykiatriska läkemedel</u>	↓ TSH ,↓FT4	Sparsamt med information !!! TYVÄRR!

AVVIKANDE VÄRDEN VID LEVAXINBEHANDLING

Levaxinbehandlade patienter

1. ↔TSH, lätt ↑ FT4	▪Fysiologisk variant	Vissa individer behöver högre levaxindos för normalisering av TSH. Försämrad konvertering T4 → T3 ?
2. ↑ TSH , ↓ FT4 (Ökad Levaxindos för att normalisera TSH)	▪ försämrat upptag i tarmen	Fiberrik mat, espressokaffe, mjölk, järn- , aluminium-, calciumpreparat, kolestiramin - ↓ absorbtion
	▪ malabsorbtion	Celiaki, aklorhydri, laktosintolerans
	▪ ökad hormonmetabolism utsöndring av TH	Fenytoin, karbamasepin, rifampicin ökar hepatisk metabolism
	▪ ökad bindning av TH	Peroral estrogenterapi (IVF), SERM (raloxifen).
3. ↑ TSH , fluktuerande FT4	▪Non-compliance !!!	Intermittent intag av tyroxin



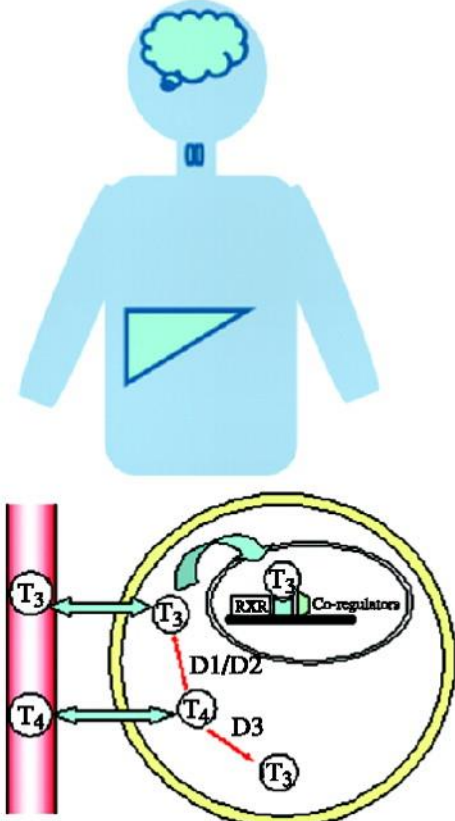
Pitfalls in the measurement and interpretation of thyroid function tests.

Koulouri O et al Best Practice & Research Clinical Endocrinology. Volume 27, Issue 6, 2013

NTI (non-thyroidal illness)

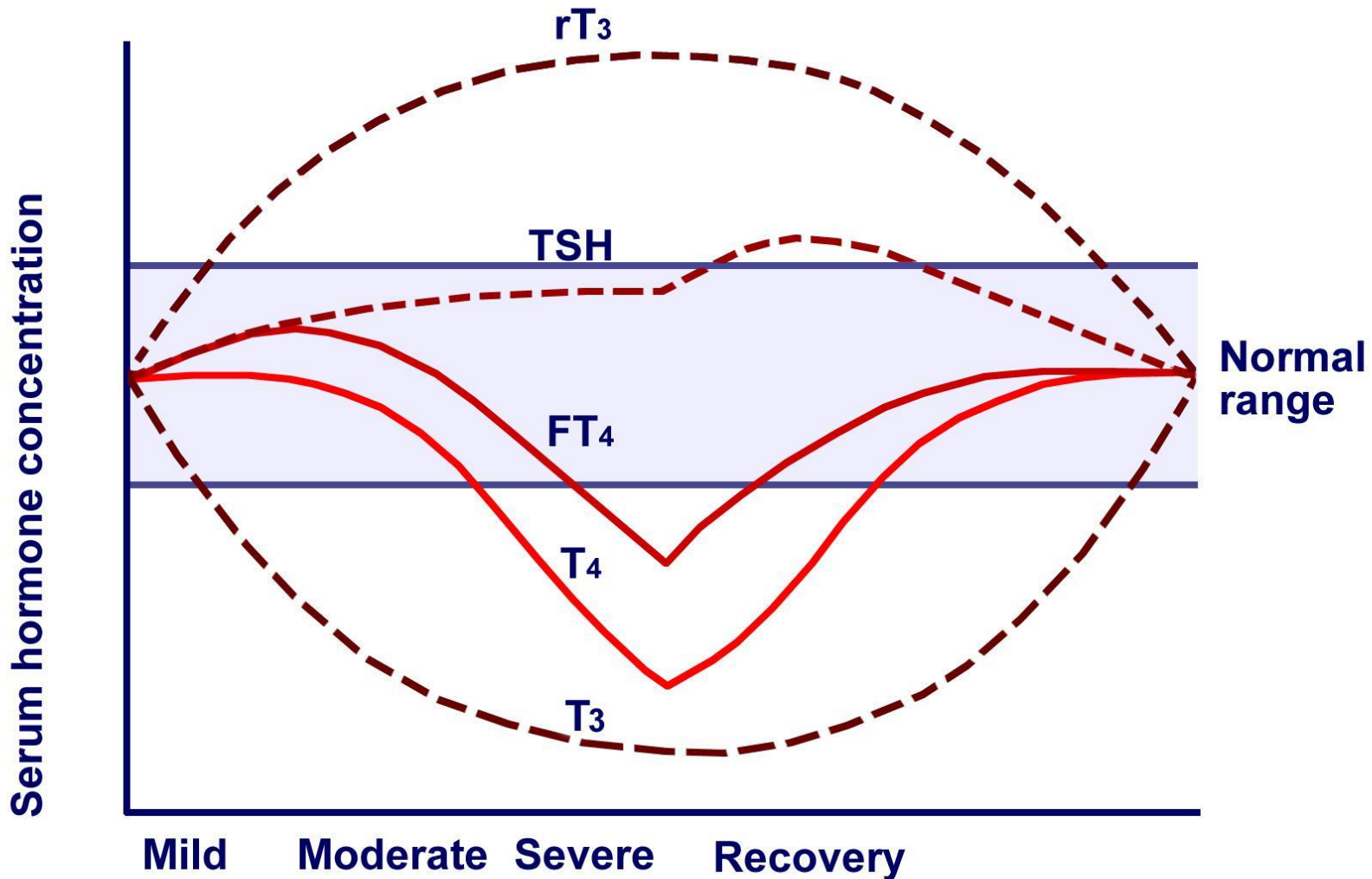
- Förändringar i HPT-axel , sk "low T3 syndrome" , senare kallade för "euthyroid"-sick patient.
- T3-sänkning vid en mild form . Vid moderat eller uttalad somatisk sjukdom TSH-sänkning och FT4-förändringar tillkommer.
- Vid tillfrisknandet stiger TSH.
- Olika mekanismer bakom fenomenet :
 - uttryck av TRH-gener minskar i hypotalamus,
 - deiodinasaktiviteten ändras,
 - nivåerna och bindningskapasiteten av TBG, transtyretin och albumin blir annorlunda.

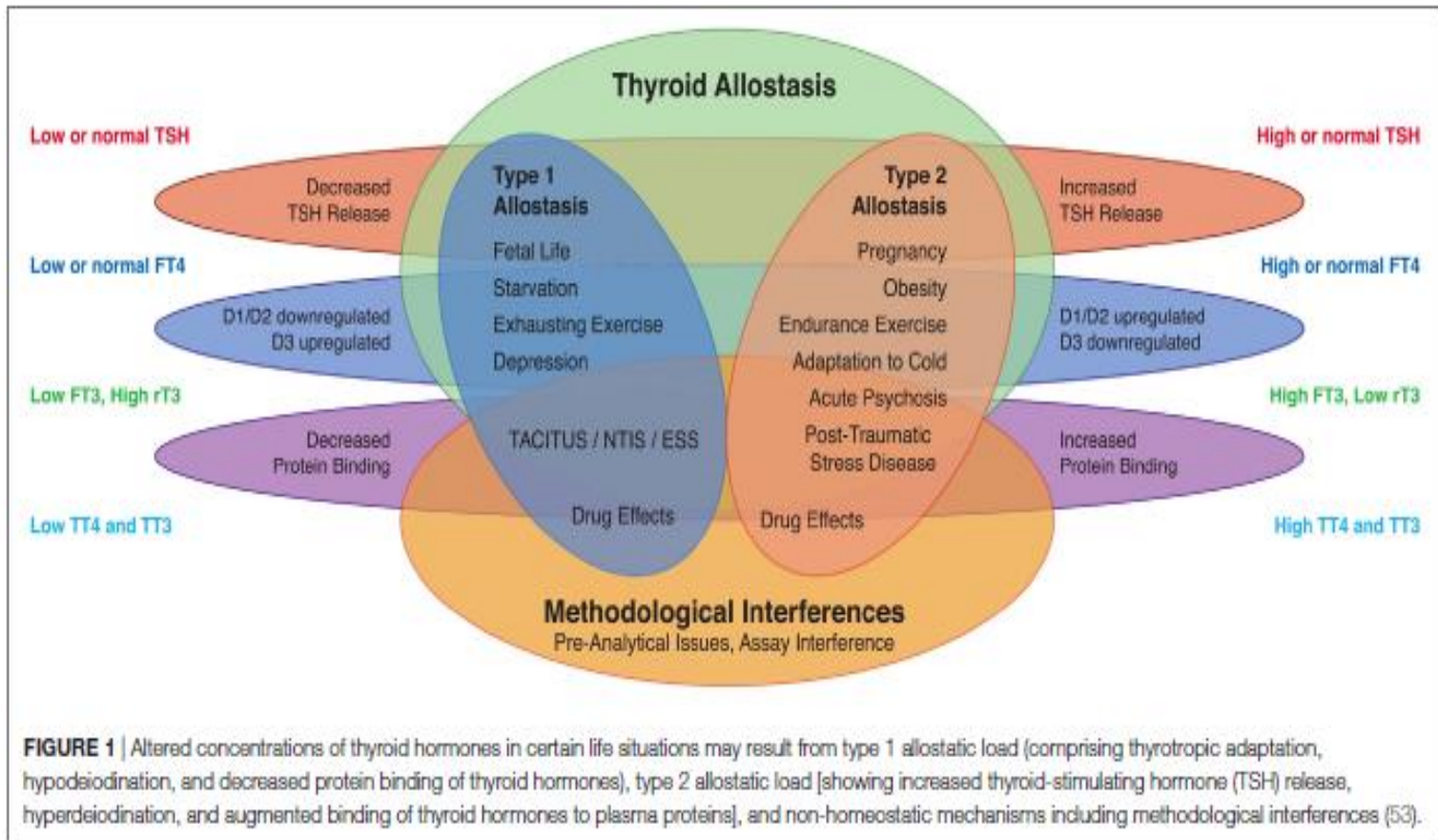
Summary of the mechanisms that give rise to the serum thyroid hormone changes in **the non-thyroidal illness syndrome.**



Hypothalamus	<ul style="list-style-type: none"> * Malnutrition → ↓ Leptin → ↓ TRH * Sepsis/Inflammation → ↑ D2 (tanycyte) → ↑ T₃ → ↓ TRH
Pituitary	<ul style="list-style-type: none"> * Cytokines → ↓ TSH
Plasma	<ul style="list-style-type: none"> * Acute phase response → ↓ TBG → ↓ TT₄ ↓ TT₃ * ↑ Competitors for TH binding proteins → ↓ TT₄ ↓ TT₃ * Free T₃ and free T₄ may also fall due to a central hypothyroidism
Tissue uptake	<ul style="list-style-type: none"> * ↓ T₄/T₃ uptake * ↑ or unchanged thyroid hormone transporter expression
Intracellular deiodination	<ul style="list-style-type: none"> * ↓ D1 Liver/kidney * ↑ D2 Muscle, prolonged illness, LPS, turpentine ↓ D2 Muscle/pneumonia * ↑ D3 Muscle/liver
Nuclear TH receptors and coactivators	<ul style="list-style-type: none"> * ↑ Chronic illness * ↓ Acute illness

NTI- non thyroidal illness





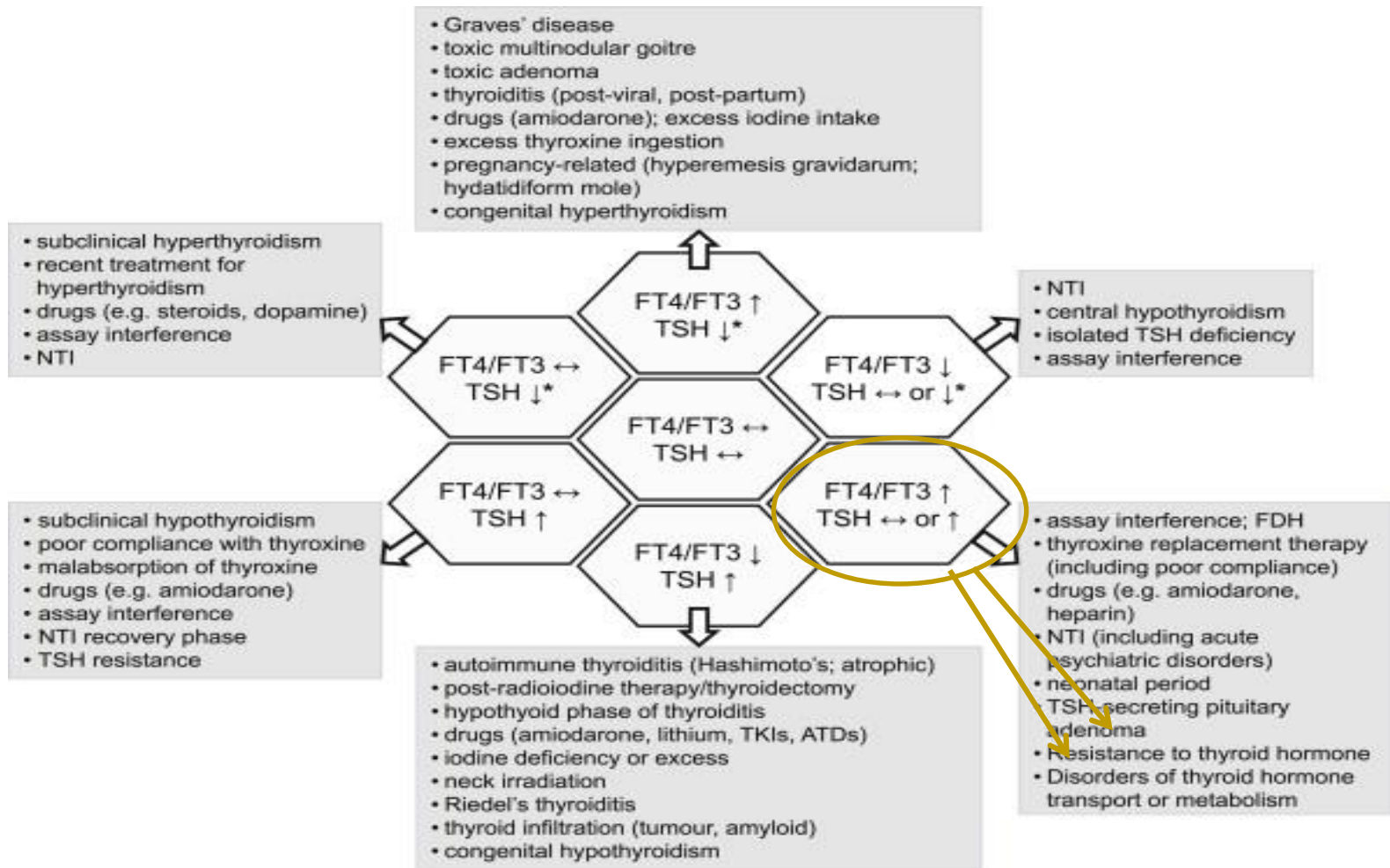
Chatzitomarīs A. et al. *Front Endocrinol* .2017

TABLE 2 | Characteristic phenotypical changes of thyroid-stimulating hormone (TSH) and various classical and non-classical thyroid hormones in certain allostatic situations show nearly opposing changes in type 1 and type 2 allostatic load (61, 63, 111, 123, 170–182).

	TSH	FT4	TT4	FT3	TT3	rT3
Type 1 allostasis in fetal period, acute and chronic critical illness, and in deprivation of energy						
Fetal life	↓, → or ↑	↓	↓	↓	↓	↑
Caloric deprivation	→ or ↓	→	↓	↓	↓	↑
Exhausting exercise	→ or ↓	→	↓	↓	↓	↑
Critical illness (general)	→ or ↓	→	→ or ↓	↓	↓	→ or ↑
Chronic heart failure	→ or ↓	→	→ or ↓	↓	↓	→ or ↑
Renal diseases	→	→ or ↓	→ or ↓	→	↓	→
Liver diseases	→	→ or ↓	↑	↓	→ or ↑	→ or ↑
Pulmonary diseases	→	→	→	↓	→	→ or ↑
Diabetes mellitus	→ or ↓	→ or ↑	↓	↓	↓	→ or ↑
Sepsis	↓	→	→ or ↓	↓	↓	→ or ↑
HIV infection	→	→ or ↓	→	→ or ↓	→	→ or ↓
Depression	→	→ or ↑	↑	↓	↓	→ or ↑
Type 2 allostasis-related conditions						
Pregnancy	→ or ↓	→	↑	→	↑	→
Endurance training	↓, → or ↑	↑	↑	↑	→ or ↓	↑
Obesity	↑	→ or ↓	→ or ↑	↑	↑	→ or ↓
Adaptation to cold	↓, → or ↑	↑	↓, → or ↑	↑	↑	→ or ↓
Acute schizophrenia	→ or ↑	→ or ↑	↑	→ or ↑	↑	→
Post-traumatic stress disorder	→	→	↑	↑	↑	?

FT4 and FT3, free T4 and T3, respectively; TT4 and TT3, total (free + protein-bound) T4 and T3, respectively; rT3, reverse T3; TSH, thyroid-stimulating hormone. Hormone concentration unchanged (→), increased (↑), decreased (↓), or not reported (?). Small studies also reported increased concentrations of 3,5-diiodothyronine (3,5-T2) (61–63), triiodothyroacetate and tetraiodothyroacetate (123, 124), and decreased concentrations of 3-monothyroneamine (63) in critical illness and chronic heart failure (not shown in table). See text for definition of type 1 and type 2 allostasis in the context of pituitary–thyroid function.

Chatzitomaris A. et al. Front Endocrinol .2017



Pitfalls in the measurement and interpretation of thyroid function tests.

Koulouri O et al Best Practice & Research Clinical Endocrinology. Volume 27, Issue 6, 2013

TR β RTH vs TSH-om

FT4/FT3 \uparrow och TSH \leftrightarrow \uparrow

Kliniskt : från asymptomatiska till en mild tyreotoxikos
(arytmi och struma)

• RTH:

- 1 på 40-50,000 nyfödda. 80%-Aut/ dominanta, 20 %- de novo
- Ingen α -subenhetsstegring
- Kraftigt TSH-svar vid TRH-belastning (> 5 ggr)
- Genetisk analys för THR β -mutation. Dock saknar c:a 15 % patienter påvisbar mutation.

Liknande diskordanta TFT hos I:a-grads släktingar ?

• TSH-om:

- < 2% av hypofysadenomen (prevalens c:a 1 per 1 000 000)
- \uparrow α -subenhet
- TRH-belastning ger utslätat TSH-svar (< 1,5 ggr)
- Hypofys-MR :
Mikro-TSH-om (MR-kvalité ?)
OBS ! Incidentalom+RTH

AVVIKANDE VÄRDEN

↑ TSH , ↔ FT4	<ul style="list-style-type: none"> Analytisk interferens i TSH-assay Makro-TSH 	HAAA, RF
↓ TSH , ↔ FT4	Analytisk interferens i TSH-assay	HAAA, RF
↔ TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	Analytisk interferens i FT4 / FT3 assay	
↔ TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	<ul style="list-style-type: none"> NEFA 	In-vitro hos heparinbehandlade pat
↔ TSH, ↑↓ FT4, FT3 (metodberoende)	<ul style="list-style-type: none"> Competitors 	Furosemid , salicylater, diklofenak
↔ TSH , ↑ FT4 och /eller ↑ FT3	<ul style="list-style-type: none"> FDH 	Familiär dysalbuminemisk hypertyroxinemi
↓ TSH , ↑ FT4	Interferens i biotin-streptavidin assays	Intag av biotin. Streptavidin-ak

Tyroxinbindande proteiner

- HSA (human serum albumin)

Högst koncentration, c:a 35-42 g/L, dock lägst affinitet för TH (c:a 10 000 lägre än TBG), binder c:a 10% av T4.

Syntetiseras i lever. $T_{1/2}$ - 19 dagar.

- TTR (transthyretin)

Binder c:a 15-20 % av cirkulerande T4. Koncentration c:a 250 mg/L. Första T4 molekyl binds med affinitet mellan TBG och HSA, andra binds sämre pga konkurrans. $T_{1/2}$ - 2 dagar.

- TBG (thyroxin-binding globulin)

Binder c:a 75 % av T4 och T3 med högst affinitet. X-bunden ärftlighet.

Syntetiseras i lever. Ökar vid estrogenpåslag. $T_{1/2}$ - **5** dagar.

Koncentration c:a 16 mg/L.

FDH (familial dysalbuminemic hypertyroxinemia) I

- Gain-of-function mutation i HSA-genen. Autosomal dominant form.
- Prevalens från 1:10 000 till 0,01-1,8 %, högst hos patienter med spansk etnicitet.
- Biokemiskt : olika grad av stegring av T4, T3 och rT3 beroende på mutationen.
- Vid den vanligaste mutation HSA R218H : ökning av TT4 utan proportionell ökning av TT3 , icke supprimerat TSH.
- Patienterna är kliniskt eutyreoida.
- OBS ! FT4 inom referensområde vid mätning med equilibrium dialys eller ultrafiltration, men **avvikande** vid immunkemisk mätning.

HSA-mutationer

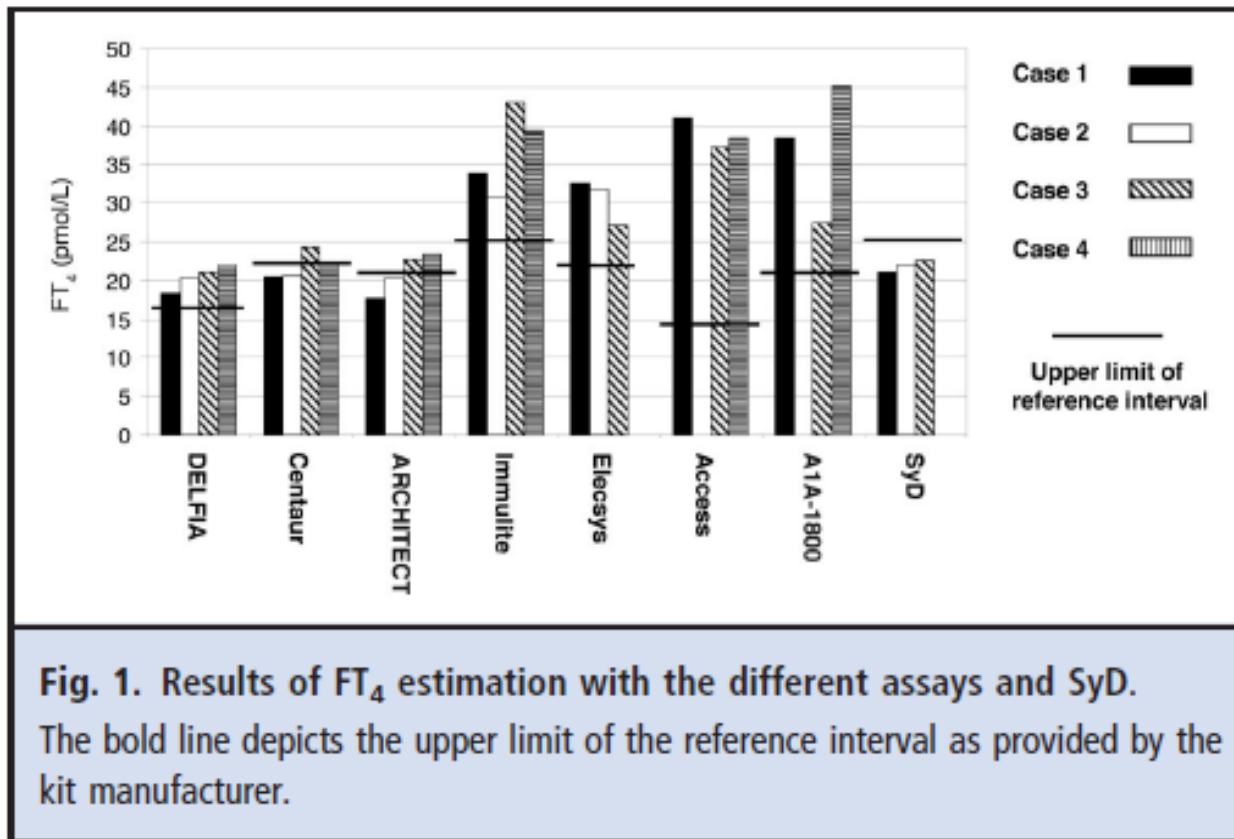
HSA TYPE	ALBUMIN MUTATION	TFT	PREVALENT POPULATION
R218H (FDH-T4)	Guanine to adenine mutation in the second nucleotide of the codon for Arg218 [2].	TT4: ↑ 1.1 - 1.8 times the UL; TT3: ↑ 0.6 - 1.2 times the UL; rT3: ↑ 0.7 - 1.4 times the UL	North America, Western Europe, Eastern Asia, Hispanic, and New Zealand.
R218P (FDH-T4)	Guanine to cytosine mutation in the same nucleotide of Arg218 [2].	TT4: ↑ 8 - 15 times the UL; TT3: ↑ 1.2 - 2.1 times the UL	Japan (Aomori prefecture)
R218S (FDH-T4)	Cytosine to adenine mutation in the first nucleotide of the codon for Arg218 [2].	TT4: ↑ 7 times the UL; TT3: ↑ 1.6 times the UL; rT3: ↑ 2.4 times the UL	Found in one Canadian family.
R218C (FDH-T4)	Cytosine to thymine mutation in the first nucleotide [2].		This variant has not been reported yet.
R222I (FDH-T4)	Guanine to thymine in the second nucleotide of Arg222 [7].	TT4: ↑ 1.3 - 2.0 times the UL; rT3: ↑ 40 - 70 times the UL	Found in 1 Croatian family and 3 unrelated families of East Africa origin.
Leu66 (FDH-T3)	Thymine substituted by cytosine in the second nucleotide of codon 66 [2, 8].	TT3: ↑ 1.4 times the UL; TT4: ↑ 0.7 times the UL	Thai

Mahendhar R. et al, Cureus 2018

FDH (familial dysalbuminemic hypertyroxinemia) II

- **!** Pat med FDH kan felldiagnostiseras med hypertyreos med olämpliga diagnostiska procedurer som påföljd och inte sällan felaktig behandling med -radioaktiv ^{131}I , tyreostatika eller subtotal tyreoidektomi.
- Vid en allvarlig somatisk sjukdom eller riktig tyreoideaåkomma kan diskordanta värden försvåra klinisk bedömning.
- Läkemedelskinetik (exvis för warfarin) kan ändras.

FT₄-nivåer vid FDH, olika metoder



Cartwright D et al, Clinical Chemistry 55:5, 2009

Fall 3 , kvinna f.1950

2019.01.16	Resultat	Refintervall	Enhet
TSH (Access)	1,1	0,4-4,0	mE/L
TSH (Cobas)	1,3	0,5-4,2	mE/L
TSH (Delfia)	1,0	0,2-4,0	mE/L
FT4 (Access)	31*	8-14	pmol/L
FT4 (Cobas)	30*	13-22	pmol/L
FT4 (Delfia)	18	10-20	pmol/L
FT3 (Access)	5,4	3,8-6,0	pmol/L
FT3 (Cobas)	5,3	3,1-6,8	pmol/L
FT3 (Immulite)	5,2	2,3-6,3	pmol/L
Totalt T4	254*	60-141	nmol/L
Totalt T3	2,3	1,3-2,5	nmol/L

Tyroxinbindande globulin (TBG)

- Mutation i TBG-genen → X-bunden TBG-anomali , som kan vara TBG-CD eller TBG-PD (complete vs partial deficiency) eller TBG-E (excess)
- Uttrycks helt hos hemizygota män. Heterozygota kvinnor har nivåer mittemellan sjuka och friska män.
- Diagnostik :
 - Labvärden : stegrad/sänkt totalt T4, dock normalt FT4
 - mätning av TBG-nivåer,
 - liknande värdekonstellation hos närmaste släktingar,
 - genetisk diagnostik ! Finns 57 TBG-varianter beskrivna och 49 mutationer.

Transtyretin (TTR)

- TTR-genmutationer är av 2 typer :
Amyloidogena och icke-amyloidogena. Dominant ärftlighet. Fibrillbildningsegenskap är inte relaterad till T4-affinitet.
- Pga lägst T4-andel som är bunden till TTR, TH-koncentrationer påverkas minst.
- C:a 2% fall av eutyreoida hypertyroxinemi har TTR-genmutationer. Ofta är den transitorisk pga NTI, då T4-affinitet ändras pga sjukdom eller/och läkemedelstillförel.

Faktorer som påverkar bindarproteiner

	Increased TBG	Decreased TBG	Albumin Transthyretin (TTR) Abnormalities
Drugs	Estrogens Tamoxifen 5-Fluorouracil Heroin/Methadone Clofibrate Nicotinic Acid Perphenazine	Thyroid hormones Androgens Anabolic steroids Glucocorticoids L-asparaginase Interleukin-6	
Pathophysiologic conditions	Pregnancy Hypothyroidism Acute/chronic hepatitis HCC/PBC Adrenal insufficiency AIDS Angioneurotic edema Acute intermittent porphyria Oat cell carcinoma	Hyperthyroidism Critical illness Sepsis Hepatic failure Nephrotic syndrome Diabetic ketoacidosis Chronic alcoholism Malnutrition Acromegaly Cushing's syndrome Extreme prematurity	Nonthyroidal illness Malnutrition Inflammation Pregnancy
Congenital conditions	TBG excess	TBG deficiency	Familial Dysalbuminemic Hyperthyroxinemia, FDH Transthyretin-Associated Hyperthyroxinemia, TTR-AH

Spencer C, TDM 2017

Klinisk kemi, KUL årsproduktion 2018

- TSH – 421 300
- FT4 - 252 964
- FT3 – 91 397

- TPO – 20 955
- TRAK – 14 250

- Totalt T4 - 8530
- Totalt T3 - 4606

Sammanfattningsvis :

Analytisk interferens

- förekommer inte så ofta
- drabbar alla immunkemiska metoder, dock i olika utsträckning, beroende på metodernas beskaffenhet
- fångas inte upp vid rutinmässig kvalitetsövervakning

Samarbete med klinikerna är viktigt för att upptäcka patientfall med analytisk interferens

Patienterna med förekomst av interferens måste informeras om det

TACK!

