

# **Definição de Valores Normais de Tiroxina Livre Durante a Gravidez**

*perspectivas*

## **RESUMO**

A gravidez é acompanhada por uma série de modificações fisiológicas que incluem uma elevação significativa da globulina ligadora de tiroxina (*Thyroxine-Binding Globulin*, TBG). Tal elevação interfere nos níveis séricos totais da tiroxina (T4) e corrobora a utilização da medida de tiroxina livre (T4L), em conjunto com a dosagem de TSH, como métodos de primeira linha para a avaliação de função tiroideana na gravidez. Uma definição cuidadosa dos valores normais de T4L durante a gestação é fundamental para o estudo de alterações da função tiroideana, desde que disfunções mínimas podem resultar em anormalidades fetais significativas. Estudamos 132 grávidas normais, entre 6 e 38 semanas de gestação, e os resultados da medida de T4L por método indireto em duas etapas (valores normais de 0,7 a 1,5ng/dL em não grávidas, n= 797) mostraram valores entre 0,5 e 1,3ng/dL, com média±DP de 0,78±0,16ng/dL, significativamente mais baixos que os observados em não grávidas (0,98±0,14ng/dL, P<0,0001). Estes valores tendem a cair progressivamente ao longo da gestação, observando-se uma correlação negativa significativa com os níveis de TBG (rs= -0,51, P<0,0001), e com a idade gestacional (rs= -0,649, P<0,0001). Os níveis de TSH não mostraram correlação com a idade gestacional. Nossos dados comprovam a necessidade de definição mais rigorosa dos valores normais para T4L em mulheres grávidas, objetivando uma avaliação laboratorial mais precisa no diagnóstico e acompanhamento de disfunções tiroideanas nesse grupo de pacientes. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 2004;48/2:305-309)

**Descritores:** Tiroxina livre e gravidez; TBG e gravidez; Função tiroideana e gravidez; Métodos de medida de tiroxina livre

## **ABSTRACT**

### **Free Thyroxine Values During Pregnancy.**

Pregnancy induces a series of physiological modifications that include a significant elevation of thyroxine-binding globulin (TBG) levels. This elevation interferes in the serum levels of total thyroxine and stresses the use of free thyroxine (FT4), together with TSH measurement, as the first line tests in the evaluation of thyroid function in pregnancy. A careful definition of the normal values for FT4 during pregnancy is paramount for the study of thyroid abnormalities, since minimal dysfunctions can result in significant fetal abnormalities. We studied 132 normal pregnant women, from 6 to 38 weeks of gestation, and the serum FT4 measured by an indirect two-step assay (normal values for non-pregnant women: 0.7 to 1.5ng/dL; mean±SD 0.98±0.14ng/dL, n= 797) showed values between 0.5 and 1.3ng/dL; mean±SD of 0.78±0.16ng/dL, values significantly lower than the observed in non-pregnant women (P<0.0001). Values tended to decline progressively throughout pregnancy, with a significant negative correlation with TBG levels (rs= -0.51, P<0.0001), as well as with weeks of gestation (rs= -0.649, P<0.0001). TSH levels did not show any correlation with gestational age. Our data corroborate the need of a precise definition of FT4 normal values during pregnancy, aiming a better laboratory evaluation of thyroid dysfunctions in this

**José Gilberto H. Vieira**  
**Ina Kanashiro**  
**Teresinha T. Tachibana**  
**Maria Teresa Ghiringhello**  
**Omar M. Hauache**  
**Rui M.B. Maciel**

*Setor de Endocrinologia, Fleury  
Centro de Medicina Diagnóstica,  
São Paulo, SP.*

*Recebido em 14/08/03  
Revisado em 10/11/03  
Aceito em 14/11/03*

group of patients. (Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/2:305-309)

**Keywords:** Free thyroxine and pregnancy; TBG and pregnancy; Thyroid function and pregnancy; Free thyroxine measurement methods

**A**DOSAGEM DE TIROXINA LIVRE (T4L) é, ao lado da dosagem do hormônio tireoestimulante (TSH), a base para o diagnóstico e seguimento laboratorial das disfunções tiroídianas. O uso da dosagem de T4L, ao invés da tradicional dosagem de T4 total, tem como base o conceito de que é a fração livre do hormônio que tem atividade biológica (1). Adicionalmente, elimina-se potencial interferência de flutuações fisiológicas ou patológicas dos níveis séricos da globulina ligadora da tiroxina (*Thyroxine-binding globulin*, TBG), a principal proteína carregadora de T4. Estas flutuações levam a variações significativas da concentração total de tiroxina, sem ter, no entanto, repercussão na condição clínica do paciente.

Foi a evolução das metodologias disponíveis para a dosagem de tiroxina livre que propiciou a disseminação da dosagem por laboratórios de rotina e sua adição real à prática diagnóstica, apesar de algumas restrições serem feitas a muitos dos desenhos metodológicos propostos (2). Diferentes tipos de metodologias foram descritos para a dosagem de T4L e podem ser classificadas didaticamente em métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos são aqueles em que a fração livre é dosada diretamente, após separação do soro por algum método físico, como diálise ou ultrafiltração. Os métodos diretos são considerados de referência, a priori não sofrem interferências importantes, mas têm contra si a dificuldade técnica, custo e tempo de execução longo. Os métodos indiretos podem ser de vários desenhos: imunoextração em duas etapas, em uma etapa com anticorpo anti-T4 marcado, ou em uma etapa com análogo de T4 marcado. Esses métodos são mais sujeitos a interferências por variações extremas de capacidade de ligação do soro, e interferentes inespecíficos, mas são mais práticos, simples, de menor custo e mais rápidos. Dos métodos indiretos, os baseados em duas etapas são teoricamente os mais comparáveis aos métodos diretos (3).

O diagnóstico e seguimento de disfunções tiroideanas durante a gestação é assunto atual e complexo. A complexidade advém das alterações fisiológicas que ocorrem durante a gravidez e que interferem não só na fisiologia tiroideana, mas também nos testes utilizados para sua avaliação (4-7). Além das alterações marcantes nos níveis de proteínas séricas, inclusive TBG, os níveis

elevados de gonadotrofina coriônica, em especial no primeiro trimestre, têm papel importante no processo fisiológico (8). O assunto tornou-se ainda mais discutido tendo em vista a publicação recente de alguns estudos que correlacionam alterações neurológicas sutis em crianças filhas de mães que apresentaram hipotireoidismo discreto durante a gravidez (9-12). Daí a necessidade de uma definição precisa da faixa da normalidade, para cada um dos diferentes métodos de medida de T4 livre, ao longo da evolução da gestação. Neste trabalho, procuramos estudar os níveis de T4 livre, TSH e TBG em grávidas normais em diferentes tempos de gestação. O objetivo foi definir valores normais de T4 livre pelo método que empregamos na rotina, um método indireto em duas etapas, para grávidas ao longo da gestação e suas correlações com os níveis de TBG e com a idade gestacional.

## MATERIAL E MÉTODOS

**População estudada:** realizamos as dosagens de T4 livre, TSH e TBG no soro de 132 mulheres grávidas normais que fizeram avaliação de rotina e tiveram seu tempo gestacional definido por ultra-som. Nenhuma delas apresentava anormalidades fetais nem estava em uso de medicação relativa à função tiroideana ou que pudesse interferir nos resultados. A idade das gestantes variou de 22 a 40 anos, e o tempo gestacional entre 6 e 38 semanas. A amostra de sangue foi sempre coletada na semana da realização do ultra-som. Como referência para os níveis de T4 livre, avaliamos os resultados obtidos em 797 mulheres de nossa rotina diagnóstica, entre 15 e 35 anos, que não faziam uso de medicações que pudessem alterar os resultados de T4 livre e que tinham níveis de TSH normais na mesma amostra.

**Dosagem de T4 livre:** foi realizada empregando o kit AutoDELFIA™ comercializado por Perkin Elmer do Brasil Ltda., São Paulo. Trata-se de método indireto em duas etapas: numa primeira o soro do paciente é incubado na presença de um anticorpo monoclonal anti-T4 que está ligado a uma fase sólida (poço de placa de microtitulação); o tempo de incubação e a afinidade do anticorpo são padronizados de maneira a não interferir significativamente na fração livre de T4 da amostra. Após lavagem dos poços é adicionada uma solução contendo T4 marcado com európio (Eu+++), que se ligará aos sítios livres do anticorpo ligado à fase sólida. Estes serão inversamente proporcionais à quantidade de T4 livre presente na amostra. Os valores de T4 livre da curva padrão são calibrados contra resultados obtidos por

método direto pós-diálise. O valor normal para adultos de ambos os sexos, validado a partir do estudo de uma população local, é de 0,7 a 1,5ng/dL.

**Outras Dosagens:** o ensaio de TSH empregado foi um método imunofluorométrico baseado em anticorpos monoclonais e desenvolvido e padronizado em nosso laboratório (13). A faixa de normalidade para adultos de ambos os sexos é de 0,3 a 4,0mUI/L. A dosagem de TBG foi feita empregando-se um ensaio imunofluorométrico baseado em um anticorpo monoclonal e num anticorpo policlonal (coelho) produzidos em nosso laboratório contra TBG humana (14). O valor normal para adultos de ambos os sexos é de 10 a 29mg/L.

**Análise Estatística:** para as análises estatísticas (médias, desvios-padrão, ANOVA, coeficiente de correlação de Spearman) empregamos o programa InStat3, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA.

## RESULTADOS

Os valores de T4 livre das grávidas variaram entre 0,5 e 1,3ng/dL, com média  $\pm$  desvio padrão de 0,78  $\pm$  0,16; estes valores são significativamente mais baixos que os obtidos nas 797 mulheres controles, onde obtivemos 0,98  $\pm$  0,14ng/dL ( $P < 0,0001$ ). Dividindo os resultados por trimestre, obtivemos: no 1º trimestre 0,91  $\pm$  0,15ng/dL ( $n = 37$ ), no 2º trimestre 0,79  $\pm$  0,10ng/dL ( $n = 47$ ) e no 3º trimestre 0,67  $\pm$  0,12ng/dL ( $n = 48$ ). O estudo estatístico mostrou que os três valores diferiam entre si, sendo os do primeiro trimestre significativamente maiores que os do segundo, que por sua vez são significativamente maiores que os do terceiro ( $P < 0,001$ ). Os valores de TSH das grávidas variaram entre 0,06 e 3,50mUI/L, com média  $\pm$  desvio padrão de 1,54  $\pm$  0,80mUI/L, não se observando diferenças significativas quando foram distribuídos segundo os trimestres de gestação. Os valores de TBG variaram entre 17,0 e 55,0mg/L, com média  $\pm$  desvio padrão de 35,1  $\pm$  7,7mg/L, significativamente mais elevada que de uma população adulta normal ( $P < 0,001$ ). Quando distribuídos por trimestre, os valores de TBG mostraram um incremento significativo do primeiro para o segundo

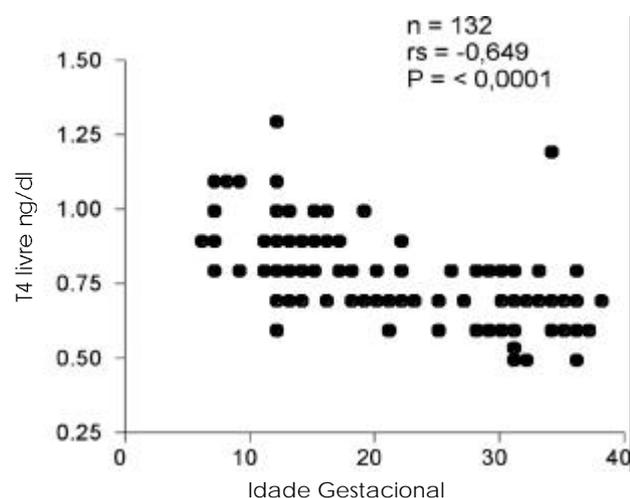
**Tabela 1.** Valores de T4 livre, TSH e TBG nas 132 grávidas normais.

	média	desvio padrão	mínimo	máximo
T4 livre ng/dL	0,78	0,16	0,5	1,3
TSH mUI/L	1,54	0,80	0,06	3,50
TBG mg/L	35,1	7,7	17,0	55,0

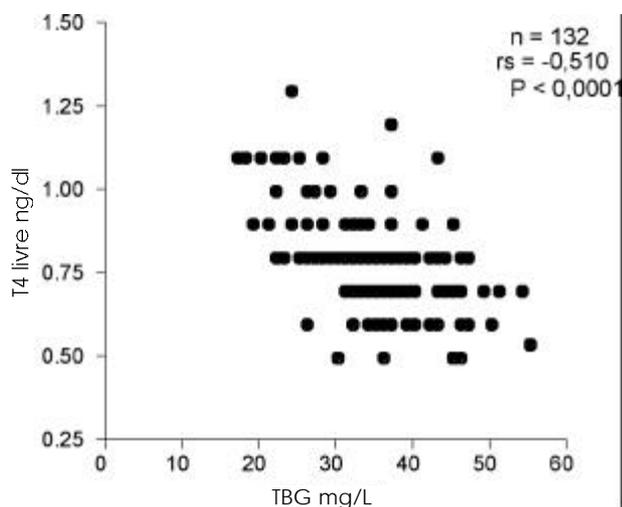
trimestre (27,8  $\pm$  6,1mg/L para 36,3  $\pm$  5,5mg/L,  $P < 0,001$ ) e do segundo trimestre para o terceiro trimestre (36,3  $\pm$  5,5 para 39,6  $\pm$  6,6mg/L,  $P < 0,05$ ). Os números gerais estão resumidos na tabela 1. O estudo de correlações mostrou uma correlação negativa significativa entre os níveis de T4 livre e a idade gestacional (rs: -0,649,  $P < 0,0001$ , figura 1). A correlação entre os níveis de T4 livre e os de TBG também foi negativa e significativa (rs: -0,510,  $P < 0,0001$ , figura 2), e a correlação entre os níveis de TBG e a idade gestacional foi positiva e significante (rs: 0,6079,  $P < 0,0001$ , figura 3). Os níveis de TSH não mostraram correlação com a idade gestacional (rs: 0,021,  $P = 0,813$ ), sendo que 4 gestantes apresentaram níveis de TSH abaixo de 0,30mUI/L (0,17, 0,09, 0,14 e 0,06mUI/L), todas no primeiro trimestre da gestação (7, 9, 12 e 12 semanas de gestação respectivamente).

## DISCUSSÃO

Desde a clássica descrição de Clark e Horn (15) de um método de avaliação da função tiroideana que correlacionava uma medida indireta de tiroxina total (PBI) com uma avaliação também indireta dos níveis de TBG (retenção de T3), inúmeros estudos foram desenvolvidos sobre o assunto. Após a descrição de métodos de referência, com a dosagem de T4L pós-diálise (16), a idéia foi sedimentada pelos resultados obtidos em inúmeras circunstâncias clínicas. A lógica por trás do princípio é inatacável, desde que se mantida a função tiroideana normal, os níveis de T4L devem se manter inalterados, independentemente das flutuações das



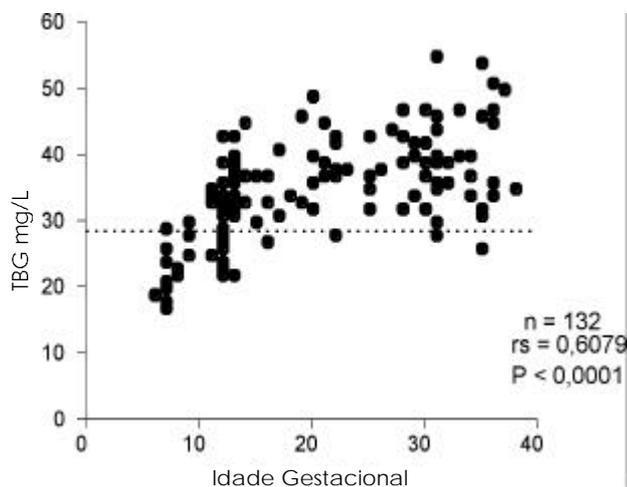
**Figura 1.** Correlação entre os níveis séricos de T4 livre (ng/dL), determinados por método indireto em duas etapas, e idade gestacional determinada por ultra-som (semanas) em 132 grávidas normais.



**Figura 2.** Correlação entre os níveis séricos de T4 livre (ng/dL), determinados por método indireto em duas etapas, e os níveis séricos de TBG (mg/L) determinados por ensaio imunofluorométrico em 132 grávidas normais.

proteínas carregadoras. Por esta razão, a dosagem de T4L vem substituindo gradualmente a dosagem do hormônio total como base para o estudo da função tireoidiana, em associação com a dosagem de TSH. Entretanto, do ponto de vista de custos e tempo de execução, uma rotina laboratorial de alto volume para a dosagem de T4L por um método de referência, como a dosagem direta pós-diálise, é inviável. Surgiram então as dosagens indiretas de T4L, com diferentes desenhos. A controvérsia não se relaciona com a idéia em si, mas com a validade dos ensaios indiretos para a medida de T4L no soro (2). Apesar da evidente evolução metodológica ocorrida principalmente na última década (3), os métodos indiretos são ainda sujeitos a limitações, em especial em condições extremas de alteração na capacidade ligadora do soro (14). Dentre os métodos indiretos para a medida de T4L, aqueles que se baseiam em duas etapas (17) são os que, em princípio, menos interferências sofrem em função de variações da capacidade de ligação (3).

Uma condição especial em termos de capacidade de ligação de T4 no soro é a gravidez. Dentre os inúmeros fenômenos que ocorrem na gestação, o incremento substancial dos níveis de TBG é um deles, traz consigo importantes conseqüências quando da análise dos níveis séricos dos hormônios tireoideanos. A concentração sérica total de T4 (e, em menor grau, de T3) se eleva proporcionalmente à elevação dos níveis de TBG, que ocorre ao longo da gestação. Logo, é sabido que a dosagem de T4 total não é um bom parâmetro para a avaliação da função tireoidiana nessa condição. Se o nível de T4L é realmente o principal



**Figura 3.** Correlação entre os níveis séricos de TBG (mg/L), determinados por ensaio imunofluorométrico, e a idade gestacional avaliada por ultra-som (semanas) em 132 grávidas normais. A linha tracejada indica o limite superior da normalidade em não grávidas.

controlador do sistema de *feedback* (2), os níveis de T4L deveriam ser normais durante a gravidez, ou qualquer outra condição em que a capacidade de ligação sérica esteja grosseiramente alterada. No entanto, em algumas condições extremas de variação da TBG, como em indivíduos com deficiência congênita, os valores de T4L por método indireto são falsamente elevados quando analisados com a metodologia aqui aplicada (14). Nosso objetivo neste estudo foi avaliar se ao longo da gravidez os níveis de T4L medidos por método indireto em duas etapas são ou não diferentes dos observados em não-grávidas. A importância desta definição foi reforçada pelos estudos recentes relacionando deficiências neurológicas em crianças nascidas de mães que evoluíram durante a gravidez com graus discretos de hipotireoidismo (9-12).

Nossos dados mostram que, com o emprego do método em estudo, no segundo e, em especial no terceiro trimestre, os níveis de T4L são significativamente mais baixos. Os valores apresentam excelente correlação com a elevação dos níveis de TBG, que sabidamente ocorre durante a gestação. Os níveis de TSH não mostraram variação significativa, sendo que encontramos quatro grávidas no primeiro trimestre com valores abaixo do normal, fato relacionado aos valores elevados de hCG nesse período (18). A interpretação dos níveis decrescentes de T4L ao longo da gestação poderia levar em conta aspectos apenas metodológicos, desde que uma elevação significativa de TBG poderia explicar uma queda de T4L medido pelo método em estudo. O fenômeno é o inverso do observado em paciente com deficiência extrema de

TBG (14). A literatura apresenta algumas publicações onde o fenômeno inverso é relatado, ou seja, aumento dos níveis de T4L com o aumento de TBG, o que parece ser dependente da metodologia utilizada (19,20). No entanto outros estudos, empregando metodologias distintas, apontam para um decréscimo de T4L ao longo da gestação, fenômeno que seria fisiológico e normal (5,21,22). De qualquer maneira, uma definição sólida dos níveis normais de T4L durante a gravidez é fundamental para a correta interpretação de resultados obtidos nesse grupo de pacientes.

## REFERÊNCIAS

1. Ekins R. Measurement of free hormones in blood. **Endocr Rev** 1990;11:4-46.
2. Ekins R. The free hormone hypothesis and measurement of free hormones. **Clin Chem** 1992;38:1289-93.
3. Midgley JEM. Direct and indirect free thyroxine assay methods: theory and practice. **Clin Chem** 2001;47:1353-63.
4. Glinoe D, De Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, Van Steirteghem A, et al. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. **J Clin Endocrinol Metab** 1990;71:276-87.
5. O'Leary PC, Boyne P, Atkinson G, Mileham KJ, James I. Longitudinal study of serum thyroid hormone levels during normal pregnancy. **Int J Gynaecol Obstet** 1992;38:171-9.
6. Burrow GN, Fisher DA, Reed Larsen P. Mechanisms of disease: maternal and fetal thyroid function. **N Engl J Med** 1994;331:1072-8.
7. Glinoe D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. **Endocr Rev** 1997;18:404-33.
8. Ballabio M, Poshychinda M, Ekins RP. Pregnancy-induced changes in thyroid function: role of human chorionic gonadotropin as putative regulator of maternal thyroid. **J Clin Endocrinol Metab** 1991;73:824-31.
9. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ, et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. **Clin Endocrinol** 1999;50:149-55.
10. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. **N Engl J Med** 1999;341:549-55.
11. Lavado-Autric R, Ausó E, Garcia-Velasco JV, Arufe MC, Escobar Del Rey F, Berbel P, et al. Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. **J Clin Invest** 2003;111:1073-82.
12. Zoeller RT. Transplacental thyroxine and fetal brain development. **J Clin Invest** 2003;111:954-7.
13. Vieira JGH, Kunii IS, Nishida SK, Matsumura LK, Russo EMK, Maciel RMB. Desenvolvimento e aplicação de um método imunofluorométrico para a dosagem de tiroxina humana (TSH) no soro e em sangue total colhido em papel de filtro. **Arq Bras Endocrinol Metab** 1992;36:7-12.
14. Vieira JGH, Tachibana TT, Obara LH, Nishida SK, Lombardi MT, Maciel RMB. Desenvolvimento de ensaio imunofluorométrico para a medida da globulina ligadora de tiroxina (*thyroxine-binding globulin*, TBG) e sua aplicação em casos de deficiência desta proteína. **J Bras Patol Med Lab** 2002;38:255-60.
15. Clark F, Horn DB. Assessment of thyroid function by the combined use of the serum protein bound iodine and resin uptake of 131-I-triiodothyronine. **J Clin Endocrinol Metab** 1965;25:39-45.
16. Nelson JC, Tomei RT. Direct determination of free thyroxine in undiluted serum by equilibrium dialysis/radioimmunoassay. **Clin Chem** 1988;34:1737-44.
17. Ekins RP, Filetti S, Kurtz AB, Dwyer K. A simple general method for the assay of free hormones (and drugs); its application to the measurement of free thyroxine levels and the bearing of the results on the "free thyroxine" concept. **J Endocrinol** 1980;85:29P-30P.
18. Fantz CR, Dagogo-Jackl S, Ladenson JH, Gronowski AM. Thyroid function during pregnancy. **Clin Chem** 1999;45:2250-8.
19. Nelson JC, Wilcox RB, Pandian MR. Dependence of free thyroxine estimates obtained with equilibrium tracer dialysis on the concentration of thyroxine-binding globulin. **Clin Chem** 1992;38:1294-300.
20. Hopton MR, Ashwell K, Scott IV, Harrops JS. Serum free thyroxine concentration and free thyroid hormone indices in normal pregnancy. **Clin Endocrinol** 1983;18:431-7.
21. Ball R, Freedman DB, Holmes JC, Midgley JE, Sheehan CP. Low-normal concentration of free thyroxin in serum in late pregnancy: physiological fact, not technical artifact. **Clin Chem** 1989;35:1891-6.
22. McElduff A. Measurement of free thyroxine (T4) levels in pregnancy. **Aust NZJ Obstet Gynaecol** 1999;39:158-61.

### Endereço para correspondência:

José Gilberto H. Vieira  
Fleury Centro de Medicina Diagnóstica  
Av. General Waldomiro de Lima 508  
04344-070 São Paulo, SP