
Bojan Marković¹, Ana Petrović-Mucok¹, Sanja Klet¹, Tamara Janić¹,
Jovana Babić¹, Mirjana Stojković^{1,2}, Biljana Nedeljković Beleslin^{1,2},
Jasmina Cirić^{1,2}, Miloš Žarković^{1,2}

INTERFERENCIJA TSH I TIROIDNIH HORMONA POSLE VAKCINE ZA COVID-19 ILI COVID-19 INFEKCIJE

Sažetak: Imunoeseji se često koriste za merenje nivoa tireostimulišućeg hormona i nivoa tireoidnih hormona. Međutim, interferencija u ovim imunoesejima može dovesti do netačne interpretacije rezultata pacijenata i pogrešnih terapijskih odluka. Analitička interferencija može nastati nakon izlaganja životinjama, infekcija, vakcinacije, kod autoimunih bolesti ili bez prepoznatog uzroka. Primećena je analitička interferencija povezana sa izlaganjem COVID-19 u merenjima D-dimera. Korišćen je test razređivanja kako bi se potvrdila interferencija u merenju nivoa tireostimulišućeg hormona i tireoidnih hormona. Rezultati: Kod tri pacijenta primećena je interferencija u nivoima TSH i TH nakon infekcije ili vakcinacije COVID-19. S obzirom na veliki broj zaraženih i vakcinisanih osoba, možemo očekivati povećanje učestalosti interferencije u imunometrijskim metodama.

Ključne reči: Interferencija, Covid-19, TSH, tireoidni hormoni

Uvod:

Imunodijagnostika se obično koristi za merenje nivoa tireostimulišućeg hormona (TSH), ukupnog i slobodnog tiroksina i trijodtironina (TT4, FT4, TT3 i FT3). Međutim, interferencija kod imunodijagnostike može dovesti do pogrešne interpretacije rezultata pacijenata i pogrešnih odluka u pogledu na terapiju sa mogućim štetnim posledicama po pacijente [1]. Interferirajuće supstance mogu biti endogene ili egzogene. Endogene supstance su polireaktivna antitela ili autoantitela (heterofilna) ili ljudska antiživotinjska antitela (u ovom radu termin „heterofilna” će se koristiti za

¹ Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Univerzitetski klinički centar Srbije, Odeljenje za bolesti štitaste žlezde

² Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Srbija

obe vrste antitela). Biotin je najčešća egzogena interferirajuća supstanca. Njihovo prisustvo može dovesti do lažno povišenih ili niskih koncentracija analita u jednom ili više dijagnostičkih sistema [2–7].

Heterofilna antitela se mogu pojaviti nakon izlaganja životinjama ili životinjskim proizvodima, virusnim ili bakterijskim infekcijama, vakcinacijama, kod autoimunih bolesti ili bez identifikovanog uzroka [8]. Prema statističkim podacima SZO za COVID-19, ukupan broj potvrđenih slučajeva je preko 572.000.000, a do 26. jula 2022. godine primenjeno je 12.248.795.623 doze vakcine [9]. Analitičke interferencije povezane sa izloženošću virusu već su primećene prilikom merenja D-dimera [10]. Ovom prilikom po prvi put izveštavamo o razvoju interferencije kod testova za ispitivanje funkcije štitaste žlezde nakon vakcinacije protiv COVID-19 ili infekcije pomenutim virusom kod tri pacijentkinje.

Materijali i metode:

Lekari su bili dobro upoznati sa pacijentkinjama koje su posećivale klinike za endokrinologiju sa dijagnozom bolesti štitaste žlezde. Na interferenciju se posumnjalo zbog nepodudaranja kliničkih nalaza i trenutnih i prethodnih laboratorijskih rezultata. **Pacijentkinji 1** je dijagnostikovana papilarni karcinom štitaste žlezde, lečen pre 4 godine, i primala je stabilnu dozu levotiroksina od 75 mg dnevno tokom 3 godine. Svi polugodišnji testovi za ispitivanje funkcije štitaste žlezde u prethodne tri godine pokazali su normalan ili nizak nivo TSH i normalan FT4. Nije bilo promene u dozi levotiroksina, a pacijentkinja je bila klinički eutireoidna. Očekivalo se da testovi pokažu normalne ili niske nivoe TSH i normalne nivoe TT4 i FT4. Međutim, rezultati su pokazali da ima izrazito povišen TSH (15,5 mU/l, referentni opseg 0,3–5,5) sa normalnim TT4 i FT4. **Pacijentkinja 2** je imala supklinički hipertireoidizam sa povećanim antitelima na TSH receptor (2,8 IU/l, granična vrednost 1,8 IU/l). Tokom prethodnih 18 meseci uradila je nekoliko testova za ispitivanje funkcije štitaste žlezde koji su pokazali TSH u serumu 0,01–0,02 mIU/l (referentni opseg 0,3–5,5), FT4 16,6–18,1 pmol/l (referentni opseg 7–18 ng/l) i TT3 1,35–1,85 nmol/l (referentni opseg 1,2–2,8). Pacijentkinja nije primala nikakve lekove za štitastu žlezdu. Pacijentkinja je bila klinički eutireoidna. Očekivalo se da testovi pokažu niske nivoe TSH i normalne nivoe TT4 i FT4. Međutim, njen nivo TSH je bio normalan. **Pacijentkinji 3** je dijagnostikovana primarni hipotireoidizam, primala je stabilnu dnevnu dozu od 125 mg levotiroksina tokom prethodne godine. Tri nedelje pre prve vakcine protiv COVID-19 TSH joj je bio 3,0 mIU/l. Bila je klinički eutireoidna i očekivalo se da će njeni testovi za ispitivanje funkcije štitaste žlezde biti normalni. Međutim, njen TSH je bio nizak (0,1 mU/l, normalni opseg 0,3–5,5), a FT4 povišen (21,7 pmol/l, normalni opseg 7–18). Sva tri pacijenta su vakcinisana protiv COVID-19, bile su zaražene virusom ili oboje. Nisu zabeleženi neočekivani ili neprikladni rezultati testa pre vakcinacije ili infekcije

virusom. Infekcija COVID-19 je utvrđena u skladu sa simptomima i znacima koji su u skladu sa onima kod infekcije i potvrđena je pozitivnim testom na COVID-19 tokom simptomatske faze. Sva tri pacijenta su podvrgnuta rutinskim testovima za ispitivanje funkcije štitaste žlezde tokom redovnih poseta. U sva tri slučaja rezultati su bili u suprotnosti sa njihovim eutireoidnim kliničkim statusom ili sa prethodno zabeleženim hormonskim statusom, što je pokrenulo dalje ispitivanje uzoraka seruma na interferenciju. Podaci o pacijentkinjama su predstavljeni u tabeli 1. Testovi razblaživanja (1:5 i 1:10 korišćenjem pufera za TSH i TT4 i normalni fiziološki rastvor za FT4) su obavljani od kraja decembra 2021. do početka maja 2022. godine. Pacijentkinje su bile subjekti kod kojih se sumnjalo na interferenciju, ali nije bilo dokazano. Nijedna pacijentkinja nije uzimala suplemente biotina u vreme testiranja.

Tabela 1. Podaci o pacijentkinjama

Redni broj	Postavljena dijagnoza	Vakcinalni status	Aktuelna terapija	Covid19 infekcija	Broj doza vakcina	Dani između vakcinacije/ Covid-19 infekcije i dilucionog testa
Pacijentkinja 1	Papilarni tiroidni karcinom	Sinopharm	Levotiroksin a 75 mg	ne	3	294
Pacijentkinja 2	Supklinički hipertiroidizam	nevakcinisana	/	da	0	89
Pacijentkinja 3	Hipotiroidizam	Pfizer	Levotiroksin a 125 mg	ne	2	55

TSH je meren IRMA metodom (INEP, Beograd, Srbija, referentni opseg 0,3–5,5 mIU/l, Intra Assay-CV (srednja vrednost 6,04 mIU/l) 2,1%, Inter-Assay-CV srednja vrednost (6,07 mIU/l) 7,1%). TT4 je meren RIA metodom (INEP, Beograd, Srbija, referentni opseg 55–155 nmol/l, Intra-Assay-CV (srednja vrednost 68 nmol/l) 3,3%, Inter-Assay-CV (srednja vrednost 81,9 nmol/l) 4,28 %). FT4 je izmeren pomoću RIA metode (Cisbio, Francuska, referentni opseg 7-18 ng/l, Intra-Assay-CV (srednja vrednost 14,55 ng/l) 5,1%, Inter-Assay-CV (srednja vrednost 14,35 ng/l) 5,06%). Interferencija je potvrđena serijskim razblaživanjima od 1:5 i 1:10). Za razblaživanje FT4 korišćen je normalni fiziološki rastvor kao što je prethodno preporučeno [11]. Merenja iz svakog od serijskih razblaživanja supoređena sa onima iz razblaživanja 1:1, a Z-rezultati su procenjeni pomoću *within-run* CV unutar opsega koji odgovara svakom merenju.

Dakle, merenje x_k iz razblaživanja 1:k bi koristilo CV koji odgovara opsegu koji sadrži $x_{1/k}$. SD merenja je izračunata prema formuli $SD_k = x_k \times CV_k$. Varijansa za razliku između merenja za razblaživanje 1:k i razblaživanje 1:1 izračunata je prema formuli $SD^2 = SD_k^2 + SD_1^2$ i Z-rezultat prema $Z = (x_k - x_1)/SD$, gde su SD_1 i x_1 standardne devijacije i izmerene vrednosti nerazređenog uzorka. Rezultati su označeni kao neskladni ako je apsolutna vrednost Z-rezultata za poređenje premašila 4 [12].

Sve procedure su sprovedene u skladu sa etičkim standardima institucionalnog i/ili nacionalnog istraživačkog komiteta i Helsinškom deklaracijom iz 1964. godine i njenim kasnijim izmenama i dopunama ili uporedivim etičkim standardima. Zbog retrospektivne prirode istrage i nedostatka identifikacije pacijenta odobrenje IRB-a nije bilo potrebno.

Analiti	TSH mIU/L ¹			TT4 nmol/L ²			FT4 ng/L ³		
	1:1	1:5	1:10	1:1	1:5	1:10	1:1	1:5	1:10
Rablaženje									
Pacijent 1:									
Merenje 1:									
Concentration	15.5	*26.3	*30.2	128.7	*181.6	*209.0	13.8	*45.9	*71.3
Z Score		17.5	24.0		10.5	16.2		41.3	75.5
Merenje 2:									
Concentration	10.7	*16.0	*21.4	142.0	*173.9	*224.9	16.3	*54.7	*88.2
Z Score		12.9	26.2		5.79	15.36		46.0	88.1
Pacijent 2									
Merenje 1:									
Concentration	1.1	*2.8	*10.6	94.8	*161.6	*200.3	11.1	*9.2	*22.2
Z Score		50.1	246.2		17.0	27.5		29.1	62.3
Merenje 2:									
Concentration	1.5	*4.9	*9.1	104.2	*159.2	*202.3	9.7	*62.3	*94.8
Z Score		93.0	18.1		13.0	23.6		76.5	126.09
Pacijent 3:									
Concentration	0.1	*1.0	*0.7	123.8	112.5	*145.2	21.7	*49.5	*79.9
Z Score		15.7	10.4		2.3	4.5		29.1	62.3
Control									
Concentration	7.7	8.0	6.9	158.9	155.5	180.0	9.1	8.0	9.2
Z Score		1.1	2.8		0.6	3.5		1.6	0.2

Tabela 2. Rezultati testova razblaživanja ¹referentne vrednosti 0.3–5.5 mIU/L; ²referentne vrednosti 55–155 nmol/L; ³referentne vrednosti 7–18 ng/L; *Detektovana interferencija

Kod svih pacijentkinja testovi razblaživanja su pokazali interferenciju u merenju nivoa TSH i FT4, a kod dve pacijentkinje u merenju TT4. Kod jedne pacijentkinje interferencija sa određivanjem TT4 bila je minimalna.

Diskusija i zaključak:

Pre pandemije COVID-19, interferencija u testovima ispitivanja funkcije štitaste žlezde zbog heterofilnih antitela procenjena je na između 0,4% i 6% ili više, u zavisnosti od analize i analiziranog analita [13]. Kod pacijenata sa COVID-19 interferencija u merenju D-dimera je već opisana [10]. Ovaj rad dokumentuje rezultate tri pacijentkinje koji su pokazali interferencije u imunometrijskom merenju serumskog TSH ili tiroksina između 55 i 294 dana nakon vakcinacije ili infekcije COVID-19. Na interferenciju se posumnjalo zbog neslaganja između kliničkog statusa pacijentkinja i biohemijskih rezultata. Izloženost vakcini ili virusu COVID-19 bila je zajednički imenitelj i prethodila je abnormalnom testu ispitivanja funkcije štitaste žlezde u svim slučajevima. Iako se uzročnost ne može potvrditi, to je najverovatnije slučaj. Učestalost interferencije u pomenutim testovima nakon COVID-19, kako utiče na različite analite i testove, kao i njeno trajanje i verovatnoća nakon različitih varijanti OVI-19 i vakcina su nepoznati.

Zbog velikog broja osoba izloženih virusu COVID-19 i vakcinisanih pojedinaca, lažni testovi mogu biti češći nego što se ranije mislilo i mogu potencijalno negativno uticati na lečenje pacijenata. Zbog toga je podizanje svesti o ovoj mogućnosti važno, a mi bismo preporučili da neslaganja između kliničkog statusa i biohemijskih rezultata testova ispitivanja funkcije štitaste žlezde treba da pokrenu testiranje uzorka na interferenciju, posebno kod pacijenata koji su bili izloženi COVID-19 ili vakcinaciji. Potrebna su dalja ispitivanja da bi se utvrdilo da li postoji uzročna veza između infekcije COVID-19 i/ili vakcinacije i interferencije testa ispitivanja funkcije štitne žlezde, njene prave učestalosti i najefikasnijeg načina za otkrivanje.