

TRABAJO ORIGINAL

PREMIO AL MEJOR TRABAJO BÁSICO, XVIII CONGRESO SAEM

Interferencia de la tiroglobulina en la determinación de anticuerpos antitiroglobulina en el líquido de lavado de aguja de punción ganglionar

Thyroglobulin Interference in the Determination of Thyroglobulin Antibody in Wash-Out Fluid from Fine Needle Aspiration Biopsy of Lymph Node

Ibáñez N¹, Cavallo A.C², Smithuis F¹, Negueruela M², Beattie E¹, Lambertini R¹, Aranda C¹, Oneto A¹.

¹TCba-Centro de Diagnóstico. ²Servicio de Endocrinología, Hospital Universitario Austral

RESUMEN

La interferencia producida por los anticuerpos antitiroglobulina (aTg) en la determinación de Tiroglobulina (Tg) ha sido bien estudiada, sin embargo la interferencia que puede producir esta última sobre la determinación de los anticuerpos no está clara.

Objetivo: Investigar la interferencia que la Tg puede producir sobre la determinación de los aTg en el líquido de lavado de aguja de punción ganglionar.

Material y Métodos: Se estudiaron retrospectivamente las muestras provenientes de la punción de adenopatías cervicales sospechosas de 19 pacientes tiroidectomizados por Cáncer Diferenciado de Tiroides (CDT). La punción se realizó con aguja 22 G bajo guía ecográfica y luego de la preparación del extendido para el estudio citológico se procedió al lavado de la aguja con 500 μ l de solución fisiológica para determinar Tg y aTg. La medición de Tg se hizo por ensayo quimioluminiscente. Los aTg se midieron utilizando dos ensayos uno no competitivo quimioluminiscente (*Q*) y otro competitivo electroquimioluminiscente (*Eq*). Se consideraron aTg negativos valores < 20 UI/ml. Se realizaron diluciones de la muestra de uno de los pacientes para el estudio de interferencia.

Resultados: En todas las muestras las concentraciones de Tg mostraron valores muy elevados (rango: 15.185 -1.141.275 ng/ml). Los resultados de los aTg fueron negativos en el 100 % de las muestras cuando se midieron por el método no competitivo (*Q*) y francamente positivos en un rango de 106 a > 4.000 UI/ml cuando se midieron por el método competitivo (*Eq*), siendo estos valores proporcionales a la concentración de Tg en la muestra. Se observó una falta de linealidad cuando se realizó ensayo de dilución a muestras de concentración elevada de aTg medidas por *Eq*. Los aTg por *Eq* se negativizaron a concentraciones de Tg inferiores a 3.000 ng/ml. Los aTg medidos por *Q* arrojaron valores negativos en todas las diluciones. Todos estos pacientes presentaban aTg negativos en suero por *Q* y *Eq*.

Conclusión: Las altas concentraciones de Tg interfieren en la medición de aTg cuando los mismos son medidos por un método competitivo. La interferencia es proporcional a las concentraciones de Tg presentes en la muestra. Se recomienda que en los líquidos de lavado de aguja de punción ganglionar los aTg sean medidos por un método no competitivo ya que no parece estar interferido por las altas concentraciones de Tg característica de los ganglios metastásicos. La detección de esta interferencia no modificó el diagnóstico ni la conducta clínica en ningún caso, sin embargo es importante conocerla con el fin de no concluir erróneamente sobre la positividad de los anticuerpos en los ganglios cuando estos son medidos por un ensayo competitivo.

Rev Argent Endocrinol Metab 51:1-7, 2014

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Palabras clave: Tiroglobulina, anticuerpos antitiroglobulina en punción ganglionar

Recibido: 07-07-2013 Aceptado: 09-09-2013

Autor para correspondencia. Adriana Oneto. Jerónimo Salguero 560. CABA. Teléfono: 4860-1000 int 1245. adrioneto@hotmail.com

ABSTRACT

Thyroglobulin antibodies (TgAb) interference with thyroglobulin (Tg) measurements has been well studied; however, Tg interference with TgAb is unclear.

Objective: To investigate how TgAb may interfere with Tg measurement in the washout fluid from lymph node fine-needle aspiration biopsy.

Materials and Methods: We retrospectively studied the samples obtained by aspiration of suspicious cervical lymph nodes from 19 patients post thyroidectomy for Differentiated Thyroid Cancer (DTC). The puncture was performed with a 22 G needle under ultrasound guidance. After preparation of cytological specimens, the needle was washed with 500 μ l of saline solution to determine Tg and TgAb. Tg was measured by chemiluminescent assay and TgAb was measured using two assays: a non-competitive chemiluminescent assay (*Q*) and a competitive electrochemiluminescence assay (*Eq*). Values of TgAb below 20 UI/ml were considered negative. Appropriate dilutions of the sample of one of the patients were performed in order to study interference.

Results: In all samples tested, concentrations showed very high Tg values (range: 15.185 - 1.141.275 ng/ml). TgAb results were negative in all the samples measured by the non-competitive method. Results were clearly positive in a range of 106 to > 4.000 IU/ml when the competitive assay (*Eq*) was used, being proportional to Tg concentrations in the samples.

A lack of linearity was observed when a dilution assay was performed in samples of high TgAb concentrations measured by *Eq*. When Tg concentrations were below 3.000 ng / ml, TgAb became negative when measured by *Eq*. TgAbs measured by *Q* were negative in all dilutions. TgAbs in serum were negative in all patients by the two methodologies (*Q* and *Eq*).

Conclusion: High levels of Tg interfere with TgAb measurement when a competitive method is used. The interference is proportional to the concentrations of Tg. It is recommended that in the wash-out fluid from fine needle aspiration, TgAbs should be measured by a non-competitive method since there appears to be no interference from the high concentrations of Tg characteristic of metastatic nodes. The detection of this interference did not change the diagnosis or clinical management in any case; however, it is important to be aware of such interference so as not to make erroneous conclusions about the positivity of TgAbs in lymph nodes when a competitive method is used. **Rev Argent Endocrinol Metab 51:1-7, 2014**

No financial conflicts of interest exist.

Key words: Thyroglobulin, thyroglobulin antibodies in lymph node puncture.

INTRODUCCIÓN

En el Carcinoma Diferenciado de Tiroides (CDT), las metástasis en los ganglios linfáticos clínicamente evidentes se encuentran aproximadamente en un tercio de los pacientes al momento del diagnóstico. El riesgo de recurrencia de acuerdo al estadio es de 3-7 % para pacientes de bajo riesgo, 17 % para riesgo intermedio y 23-48 % para pacientes de alto riesgo⁽¹⁾. Frente a la sospecha de recurrencia tumoral en ganglios de tamaño mayor a 5-8 mm, las sociedades de endocrinología de todo el mundo recomiendan realizar la citología ganglionar por punción bajo guía ecográfica asociada a la determinación de Tg en líquido de lavado⁽²⁻⁴⁾.

Aún es controversial si la determinación de Tg en muestras de punción ganglionar, debe asociarse a la determinación simultánea de aTg^(2,5). La mayoría de los grupos que han trabajado en el tema refieren que no se manifiesta la interferencia de los aTg positivos en sangre en la determinación de Tg en líquido de punción⁽⁵⁻¹⁴⁾. Si bien un resultado de Tg no puede validarse sin conocer el valor del aTg en la muestra, la utilidad de la determinación

de los aTg en muestras de lavado de aguja y su interpretación no está estandarizada. La interferencia producida por los anticuerpos en la determinación de Tg sérica ha sido bien estudiada, sin embargo la interferencia que puede ocasionar esta última sobre la determinación de los anticuerpos no está clara.

El objetivo del presente trabajo es investigar la interferencia que las altas concentraciones de Tg características de los ganglios metastásicos pueden producir sobre la determinación de los aTg en el líquido de lavado de aguja de punción ganglionar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron retrospectivamente 19 muestras de líquido de lavado de aguja de punción de adenopatías cervicales sospechosas provenientes de 19 pacientes tiroidectomizados por CDT. La punción se realizó con aguja 22 G, bajo guía ecográfica y luego de la preparación del extendido para el estudio citológico se procedió al lavado de la aguja con 500 μ l de solución fisiológica. En la misma se realizó la determinación de Tg y aTg. Un paciente

fue tomado como caso índice (paciente N° 16 de **Tabla 1**) por haber sido el primer caso de sospecha de interferencia recibido en el laboratorio.

La medición de Tg se realizó mediante un ensayo quimioluminiscente Immulite 2000 (Siemens) (Sensibilidad Funcional 0,3 ng/ml). Los aTg se midieron utilizando dos tecnologías diferentes:

TABLA 1. Valores de Tg (ng/ml) y aTg (UI/ml) (Q y Eq) en el líquido de lavado de aguja de punción ganglionar.

Pacientes (Eq)	T (Q)	aTg	aTg
1	15185	106	< 20
2	15569	123	< 20
3	32475	150	< 20
4	31451	226	< 20
5	38444	182	< 20
6	44706	312	< 20
7	68990	280	< 20
8	79126	895	< 20
9	81242	306	< 20
10	89039	739	< 20
11	90980	588	< 20
12	99703	522	< 20
13	128349	788	< 20
14	204744	1375	< 20
15	289082	2493	< 20
16*	306326	2780	< 20
17	323266	3120	< 20
18	431804	> 4000	< 20
19	1141275	> 4000	< 20

Immulite 2000 (Siemens) método no competitivo quimioluminiscente (Q) y Cobas e411 (Roche) método competitivo electroquimioluminiscente (Eq). **Figura 1 y 2.** Se consideró que los ATg eran negativos cuando los valores obtenidos fueron menores a 20 UI/ml para ambas metodologías. Todos los pacientes presentaban aTg inferiores a 20 UI/ml por Q y Eq en suero.

Estudio de Interferencia: se realizaron diluciones apropiadas de la muestra 16* para medir aTg por los dos métodos.

RESULTADOS

En las muestras analizadas, las concentraciones de Tg en el líquido de lavado de aguja de punción ganglionar mostraron valores en el siguiente rango: 15.185 a 1.141.275 ng/ml. Los resultados de los aTg fueron inferiores a 20 UI/ml (negativos) en todas las muestras cuando se midieron por el método no competitivo (Q) y positivos en un rango de 106 a mayor de 4.000 UI/ml cuando se midieron por el método competitivo (Eq). Los resultados se muestran en la **Tabla 1**. Los valores de ATg procesados por Eq mostraron una correlación positiva significativa con las concentraciones de Tg presentes en las muestras. ($R^2 = 0,9594$; $p < 0,001$).

En la **Figura 3** se grafica la regresión lineal.

En las diluciones realizadas a la muestra 16 (paciente índice) para la medición de aTg se observó una falta de linealidad al utilizar el método competitivo (Eq). Cuando las concentraciones de Tg

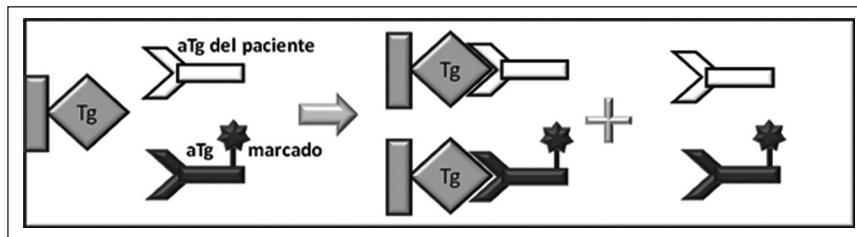


Figura 1. Diseño esquemático del ensayo competitivo (Eq)

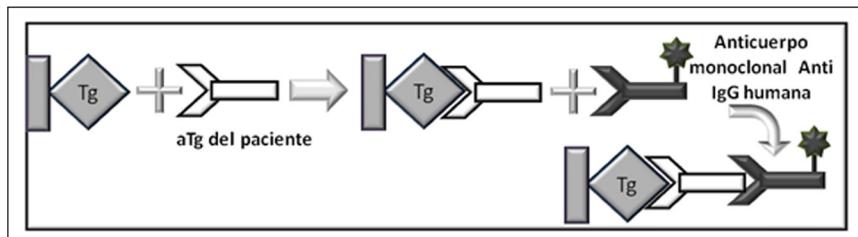


Figura 2. Diseño esquemático del ensayo no competitivo (Q)

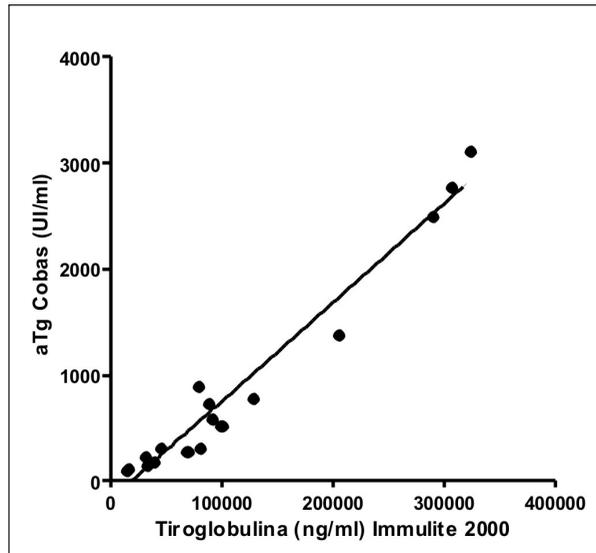


Figura 3. Regresión lineal aTg (UI/ml) por Eq vs concentración de Tg (ng/ml)

TABLA 2. Valores obtenidos de Tg (ng/ml) y aTg (UI/ml) en las diluciones realizadas para la muestra 16

Muestra	Tg Valor medido	Tg (Valor final teórico)	aTg UI/ml Eq	aTg UI/ml Q
Directo	> 300	306.326	2780	< 20
Dil 1/10	> 300	30.632	850	< 20
Dil 1/100*	> 300	3063*	< 20	< 20
Dil 1/1000	> 300	306,3	< 20	< 20
Dil 1/10000	30.6	30,6	< 20	< 20

fueron inferiores a 3.000 ng/ml, los anticuerpos por Eq se negativizaron (Menor a 20 UI/ml). Los aTg medidos por método no competitivo (Q) arrojaron valores negativos en todas las diluciones. **Tabla 2.**

DISCUSIÓN

La tiroglobulina (Tg) es una glicoproteína sintetizada en las células foliculares de la glándula tiroidea, constituyendo un marcador sérico importante en la detección de CDT residual o recurrente. En suero un valor indetectable de Tg es uno de los criterios para establecer la ausencia de un tumor persistente o recurrente en pacientes con CDT que han sido sometidos a tiroidectomía total con o sin ablación con ^{131}I (2,7,8). La utilidad clínica de la Tg medida en suero se ve limitada por la presencia de

aTg en la muestra ya que estos interfieren en la medición de la misma. La presencia de aTg sigue siendo la principal limitación en el uso de este marcador tumoral. Debido a esto, siempre que se realiza una Tg sérica debe acompañarse de la determinación de aTg para decidir sobre el significado clínico de la misma(2,6,9-17). Se ha considerado que si el título de aTg medido está por debajo de un umbral clínico, éste no será una influencia significativa en el resultado de Tg. Sin embargo, estudios recientes demostraron que aTg por debajo del valor de significado clínico pero por encima del valor de corte del método pueden también interferir el resultado de Tg (valores de aTg entre 20 y 40 UI/ml)(13).

La determinación de Tg en el líquido de lavado de aguja de punción ganglionar fue incorporada por Pacini en el año 92(18). Las guías de práctica clínica actuales recomiendan su uso en forma rutinaria cuando se realiza una punción ganglionar frente a la sospecha de metástasis de CDT(2-4), aumentando de esta manera la sensibilidad y especificidad diagnóstica de esta técnica(19,20). La determinación simultánea de Tg y aTg cuando se realiza este procedimiento no está estandarizada. Una revisión bibliográfica del tema permite señalar algunos puntos de controversia, por ejemplo, la falta de consenso a la hora de medir rutinariamente aTg junto con Tg en lavado de aguja de punción ganglionar(19-23).

La literatura ofrece datos de abordaje de fenómenos de interferencia metodológica en suero, como Pickett y col.(10), que buscaron esclarecer las discordancias entre diferentes métodos para la determinación de aTg en suero y pudieron demostrar interferencia en la determinación de aTg a partir de 1.000ng/ml de Tg. Para ello, los autores utilizaron concentraciones crecientes de Tg que añadieron a sueros de pacientes con anticuerpos negativos.

Hay trabajos que demuestran que los anticuerpos en suero no interfieren con la Tg en el ganglio y se considera innecesario medirlos en el lavado de aguja(20,21). Jeon y col. demostraron que los aTg positivos en suero pueden producir interferencia en los niveles de Tg del ganglio, llevando a diagnósticos erróneos. Sin embargo, estos autores no determinaron aTg en líquido de lavado de aguja junto a Tg, solo se basaron en los valores obtenidos en el suero de los pacientes, infiriendo la posible interferencia de estos en el resultado.

Aquellos autores que midieron ambos: Tg y aTg y encontraron aTg positivos en el líquido de

punción ganglionar atribuyeron estos resultados a producción local o contaminación^(19,20) y todos concluyeron que no interferían en el diagnóstico.

Borel y col. trabajaron sobre muestras de punción ganglionar demostrando la interferencia en los resultados de aTg a partir de una Tg de 2.000 ng/ml⁽⁶⁾.

Algunos autores teorizan que existe una producción local ganglionar de anticuerpos, basados en trabajos publicados en la década del 80. En estos estudios el fenómeno se asoció con autoinmunidad tiroidea sérica positiva y ninguno de ellos fue realizado en pacientes con CDT⁽²⁵⁻²⁷⁾.

En nuestra experiencia, desarrollada en líquido de punción ganglionar y realizando diluciones seriadas, encontramos interferencia en la medición de aTg a partir de 3.000 ng/ml de Tg con el método *Eq*. En ninguno de los casos influyó en el diagnóstico o conducta clínica posterior. Cabe destacar que ninguno de nuestros pacientes presentaba autoinmunidad positiva en suero.

Otro aspecto interesante que surge de nuestra serie es la observación de un caso de subestimación de los valores de Tg o “efecto Hook” a concentraciones de Tg tan elevadas que saturaron a los anticuerpos de detección del inmunoensayo. Este fenómeno fue observado en nuestro caso índice donde observamos un valor de Tg en la primera punción de 220 ng/ml con un aTg mayor de 4.000 UI/ml por método competitivo electroquimioluminiscente. Esto nos orientó a considerar una probable interferencia y nos llevó a reevaluar al paciente mediante una segunda punción del ganglio en la que se obtuvo un valor de Tg de 306.326 ng/ml.

Nuestros datos resaltan un fenómeno metodológico importante a tener en cuenta en la determinación e interpretación de los aTg en pacientes con CDT. La comparación entre ensayos permite detectar las posibles interferencias.

Para realizar una adecuada interpretación clínica de los resultados de cada paciente se sugiere analizar los mismos junto con los valores en suero, ya que si estos no poseen autoinmunidad sérica asociada es muy poco probable que posean anticuerpos positivos en ganglio⁽²⁵⁻²⁸⁾. En ninguno de los casos analizados esta interferencia influyó en el diagnóstico clínico, ya que la Tg fue siempre positiva. El basamento metodológico que explicaría nuestros hallazgos es el siguiente: en el ensayo competitivo (*Eq*), hay una primera etapa donde el anticuerpo marcado y el anticuerpo del paciente compiten por los sitios de unión al antígeno (Tg)

unido a una fase sólida. Una vez que la reacción alcanza el equilibrio se inicia la segunda etapa: separación de los inmunocomplejos de las fracciones libres. Finalmente, en un detector adecuado se cuantifica la señal que es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpo presente en la muestra. Elevadas concentraciones de Tg en el paciente darían lugar a resultados falsamente aumentados debido a que el anticuerpo marcado no solo se uniría a la Tg en fase sólida, sino también a la Tg del paciente (**Figura 1**). Este tipo de interferencia no se observa cuando los aTg son medidos por un método no competitivo (*Q*) debido a que en este tipo de ensayo, el anticuerpo del paciente se une a la Tg que está adsorbida en fase sólida y luego un segundo anticuerpo marcado (anti IgG humana) forma el complejo en una reacción tipo sandwich. La señal emitida es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo del paciente presente en la muestra a analizar. Este diseño metodológico no resulta ser vulnerable a altas concentraciones de Tg presentes en la muestra (**Figura 2**).

Es necesario aumentar el número de pacientes para analizar la frecuencia de efecto hook en muestras de punción, su importancia clínica y definir la necesidad de realizar los aTg junto a Tg en muestras de lavado de aguja en forma rutinaria.

CONCLUSIÓN

Las altas concentraciones de Tg interfieren en la medición de los aTg en muestras de punción ganglionar cuando los mismos son medidos por un método competitivo. La interferencia es proporcional a las concentraciones de Tg presentes en la muestra. Se recomienda que en los líquidos de lavado de aguja de punción ganglionar los aTg se midan por un método no competitivo ya que no parece estar interferido por las altas concentraciones de Tg características de los ganglios metastásicos. La detección de esta interferencia no modificó el diagnóstico ni la conducta clínica en ningún caso, sin embargo es importante conocerla con el fin de no concluir erróneamente sobre la positividad de los anticuerpos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pitoia F, Bueno F, Urciuoli C, Abelleira E, Cross G, Tuttle RM. Outcomes of patients with differentiated thyroid cancer risk-stratified according to the American thyroid association and Latin American

- thyroid society risk of recurrence classification systems. *Thyroid*. 23:1401-07, 2013
2. **Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Hauger BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Pacini F, Schlumberger M, Sherman SI, Steward DL, Tuttle RM.** Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 19:1167-1214, 2009
 3. **Pitöia F, Ward L, Wohlk N, Friguglietti C, Tomimori E, Gauna A, Camargo R, Vaisman M, Harach R, Munizaga F, Corigliano S, Pretell E, Niepomniszcze H.** Recommendations of the Latin American Thyroid Society on diagnosis and management of differentiated thyroid cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 53:884-87, 2009
 4. **Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JW, Wiersinga W; European Thyroid Cancer Taskforce.** European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur J Endocrinol* 154:787-803, 2006
 5. **Borel AL, Boizel R, Faure P, Barbe G, Boutonnat J, Sturm N, Seigneurin D, Bricault I, Caravel JP, Chaffanjon P, Chabre O.** Significance of low levels of thyroglobulin in fine needle aspirates from cervical lymph nodes of patients with a history of differentiated thyroid cancer. *Eur J Endocrinol* 158:691-98, 2008
 6. **Spencer CA.** Challenges of serum thyroglobulin (Tg) measurement in the presence of Tg autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3702-04, 2004
 7. **Ibrahimasic TI, Nixon IJ, Palmer FL, Whitcher MM, Tuttle RM, Shaha A, Patel SG, Shah JP, Ganly I.** Undetectable thyroglobulin after total thyroidectomy in patients with low- and intermediate-risk papillary thyroid cancer--is there a need for radioactive iodine therapy? *Surgery*. 152:1096-105, 2012
 8. **Pitöia F, Abelleira E, Tala H, Bueno F, Urciuoli C, Cross G.** Biochemical persistence in thyroid cancer: is there anything to worry about? *Endocrine* 2014.
 9. **Latrofa F, Ricci D, Montanelli L, Rocchi R, Paggi P, Sisti E, Grasso L, Basolo F, Ugolini C, Pinchera A, Vitti P.** Thyroglobulin Autoantibodies in Patients with Papillary Thyroid Carcinoma: Comparison of Different Assays and Evaluation of Causes of Discrepancies. *J Clin Endocrinol Metab*. 97:3974-82, 2012
 10. **Pickett AJ, Jones M, Evans C.** Causes of discordance between thyroglobulin antibody assays. *Annals of Clinical Biochemistry* 49:463-67, 2012
 11. **Spencer CA.** Clinical utility of thyroglobulin antibody (TgAb) measurements for patients with differentiated thyroid cancers (DTC). *J Clin Endocrinol Metab* 96:3615-27, 2011
 12. **Spencer CA, Bergoglio LM, Kazarosyan M, Fatemi S, LoPresti JS.** Clinical impact of thyroglobulin (Tg) and Tg autoantibody method differences on the management of patients with differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 90:5566-75, 2005
 13. **Spencer C, Petrovic I, Fatemi S.** Current thyroglobulin autoantibody (TgAb) assays often fail to detect interfering TgAb that can result in the reporting of falsely low/undetectable serum Tg IMA values for patients with differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 96:1283-91, 2011
 14. **Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, Wang CC, Guttler RB, Singer PA, Fatemi S, LoPresti JS, Nicoloff JT.** Serum thyroglobulin autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement, and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1121-27, 1998
 15. **Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Pradella M, Manoni F, Vilalta D, Bassetti D, Piazza A, Rizzotti P.** Immunoassay of anti-thyroid autoantibodies: high analytical variability in second generation methods. *Clin Chem LabMed* 40:568-73, 2002
 16. **Krahn J, Dembinski T.** Thyroglobulin and anti-thyroglobulin assays in thyroid cancer monitoring. *Clin Biochem* 42:416-19, 2009
 17. **Rosario PW, Maia FF, Fagundes TA, Vasconcelos FP, Cardoso LD, Purisch S.** Antithyroglobulin antibodies in patients with differentiated thyroid carcinoma: methods of detection, interference with serum thyroglobulin measurement and clinical significance. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 48:487-92, 2004
 18. **Pacini F, Fugazzola L, Lippi F, Ceccarelli C, Centoni R, Miccoli P, Elisei R, Pinchera A.** Detection of thyroglobulin in fine needle aspirates of nonthyroidal neck masses: a clue to the diagnosis of metastatic differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol* 74:1401-04, 1992
 19. **Véliz J, Brantes S, Ramos C, Aguayo J, Cáceres E, Herrera M, Barber A, Barría M, Wohlk N.** Thyroglobulin levels in needle lymph node cytology for the detection of papillary thyroid cancer recurrence. *Rev Med Chil* 136:1107-12, 2008
 20. **Snozok CL, Chambers EP, Reading CC, Sebo TJ, Sistrunk JW, Singh RJ, Grebe SK.** Serum thyroglobulin, high-resolution ultrasound, and lymph node thyroglobulin in diagnosis of differentiated thyroid carcinoma nodal metastases. *J Clin Endocrinol Metab* 92:4278-81, 2007
 21. **Boi F, Baghino G, Atzeni F, Lai ML, Faa G, Mariotti S.** The diagnostic value for differentiated thyroid carcinoma metastases of thyroglobulin (Tg) measurement in washout fluid from fine-needle aspiration biopsy of neck lymph nodes is maintained in the presence of circulating anti-Tg antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 91:1364-69, 2006
 22. **Baskin HJ.** Detection of recurrent papillary thyroid carcinoma by thyroglobulin assessment in the needle washout after fine-needle aspiration of suspicious lymph nodes. *Thyroid*. 14:959-63, 2004
 23. **Cunha N, Rodrigues F, Curado F, Ihéu O, Cruz C, Naidenov P, Rascão MJ, Ganho J, Gomes I, Pereira H, Real O, Figueiredo P, Campos B, Valido F.** Thyroglobulin detection in fine-needle aspirates of cervical lymph nodes: a technique for the diagnosis of metastatic differentiated thyroid cancer. *Eur J Endocrinol* 157:101-07, 2007

24. **Jeon MJ, Park JW, Han JM, Yim JH, Song DE, Gong G, Kim TY, Baek JH, Lee JH, Shong YK, Kim WB.** Serum antithyroglobulin antibodies interfere with thyroglobulin detection in fine-needle aspirates of metastatic neck nodes in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 98:153-60, 2013
25. **S M McLachlan, J Fawcett, M C Atherton, P Thompson, P Baylis, and B R Smith.** Thyroid autoantibody synthesis by cultures of thyroid and peripheral blood lymphocytes. II. Effect of thyroglobulin on thyroglobulin antibody synthesis. *Clin Exp Immunol* 52: 620-28, 1983
26. **A P Weetman, A M McGregor, M H Wheeler, and R Hall.** Extrathyroidal sites of autoantibody synthesis in Graves' disease. *Clin Exp Immunol* 56:330-36, 1984
27. **M C Atherton, S M McLachlan, C APegg, A Dickinson, P Baylis, E T Young, S J Proctor, and B Rees Smith B.** Thyroid autoantibody synthesis by lymphocytes from different lymphoid organs: fractionation of B cells on density gradients. *Immunology* 55:271-79, 1985
28. **Cavallo AC, Saco P, Voogd A, Oneto A, Negueruela MC.** Anticuerpos antitiroglobulina positivos en un ganglio metastásico y negativos en suero. ¿cuál es la causa? *Rev Argent Endocrinol Metab* 50:160, 2013