

Tireóide, Doenças da: Utilização dos Testes Diagnósticos

*Autoria: Sociedade Brasileira de
Endocrinologia e Metabologia*

Elaboração Final: 30 de agosto de 2004

Participantes: Carvalho GA.

O Projeto Diretrizes, iniciativa conjunta da Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, tem por objetivo conciliar informações da área médica a fim de padronizar condutas que auxiliem o raciocínio e a tomada de decisão do médico. As informações contidas neste projeto devem ser submetidas à avaliação e à crítica do médico, responsável pela conduta a ser seguida, frente à realidade e ao estado clínico de cada paciente.

DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE COLETA DE EVIDÊNCIAS:

Os dados para a realização desta diretriz foram coletados a partir de revisão bibliográfica de artigos científicos.

GRAU DE RECOMENDAÇÃO E FORÇA DE EVIDÊNCIA:

A: Estudos experimentais e observacionais de melhor consistência.

B: Estudos experimentais e observacionais de menor consistência.

C: Relatos de casos (estudos não controlados).

D: Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

OBJETIVOS:

As disfunções tireoidianas podem se apresentar de forma insidiosa e com manifestações clínicas sutis. Nestes casos, os testes laboratoriais são de extrema importância para o diagnóstico precoce. O nosso objetivo é avaliar a utilização das medidas séricas de TSH, dos hormônios tireoidianos e dos anticorpos antitireoidianos, bem como as armadilhas e interferências relacionadas ao seu uso cotidiano.

CONFLITO DE INTERESSE:

Nenhum conflito de interesse declarado.

AVALIAÇÃO DO HORMÔNIO TIREOESTIMULANTE (TSH)

A secreção hipofisária de TSH regula a secreção de T_4 (tiroxina) e T_3 (triiodotironina), que por sua vez exercem *feedback* negativo no tireotrofo hipofisário com uma relação log-linear^{1,2}(B). 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 tireoidiana³(D). A secreção do TSH é pulsátil e possui um ritmo circadiano com os pulsos de secreção ocorrendo entre 22h e 4h da madrugada, sendo seus níveis médios entre cerca de 1,3 e 1,4 mU/L, com limites inferiores entre 0,3 e 0,5 mU/L e limites superiores entre 3,9 e 5,5 mU/L⁴(C). Variações na concentração sérica de TSH podem ser atribuídas à esta secreção pulsátil e à liberação noturna do TSH⁵(C).

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 tireoidiana⁶(B).

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 anos⁷(B). Em função do hipotireoidismo não detectado na gravidez poder afetar o desenvolvimento neuropsicomotor⁸(B) e a sobrevivência do feto⁹(B), além de ser acompanhado de hipertensão e toxemia¹⁰(B), também tem sido recomendada a dosagem de rotina do TSH em mulheres grávidas^{8,11}(B). A triagem também é apropriada para pacientes com risco aumentado de disfunção tireoidiana, como aqueles que recebem lítio, amiodarona, citocinas, radiação ao pescoço ou que tenham outras doenças imunes, hipercolesterolemia, apnéia do sono, depressão ou demência. Em todas estas situações, deve-se confirmar a elevação de TSH antes de iniciar a reposição com

levotiroxina¹²(B). A concentração de TSH reflete adequadamente a reposição de T_4 em pacientes com hipotireoidismo¹³(B). Apesar disto, em diversas situações não se pode depender apenas da dosagem do TSH na avaliação da função tireoidiana, que pode apresentar algumas limitações no seu uso¹²(B).

SITUAÇÕES ESPECIAIS NA DOSAGEM DE TSH

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 1 ano após a normalização dos níveis hormonais de T_3 e T_4 , a dosagem do TSH pode não indicar adequadamente o estado tireoidiano, em função da prévia supressão ou hipertrofia dos tireotrofos, respectivamente^{2,14}(B).

Em pacientes com hipotireoidismo sem adesão adequada ao tratamento e que fazem uso intermitente de T_4 podemos encontrar valores discordantes de TSH e T_4 livre. Enquanto a mensuração de TSH reflete um *set point* de 6 a 8 semanas de uso da tiroxina, a dosagem de T_4 livre reflete a adequação mais recente no uso de T_4 . Nestes pacientes a dosagem de TSH pode estar elevada, apesar de níveis normais ou elevados de T_4 livre²(B).

A dosagem isolada de TSH pode ser inadequada em pacientes com doença hipotalâmica ou hipofisária. A dosagem de TSH pode estar baixa, normal ou mesmo elevada em pacientes com hipotireoidismo central. Nesta situação, o TSH tem atividade biológica diminuída, não tem ritmo

circadiano, mas mantém a sua imunotividade¹²(B). Nos pacientes com doença hipotalâmica ou hipofisária, a reposição com levotiroxina deve ser monitorada unicamente pela medida dos hormônios livres, não existindo papel para o TSH sérico.

Pacientes em tratamento supressivo com tiroxina para câncer de tireóide podem ser monitorados apenas com o TSH de terceira geração. Num estudo de 460 pacientes em uso supressivo de tiroxina, quase todos os pacientes com um TSH maior que 0,05 mU/L tinham um nível sérico normal de T_4 livre¹⁵(C). Apenas pacientes em terapia supressiva de TSH cujos níveis de TSH eram menores que 0,05 mU/L foram beneficiados com uma dosagem simultânea de T_4 livre, uma vez que a detecção de uma hipertiroxinemia nesta situação deve sugerir redução na dose de T_4 ¹⁶(B).

Existem evidências de que na doença não tireoidiana severa podemos ter um real hipotireoidismo central transitório¹⁷(B). Na fase de recuperação da doença, os níveis de TSH podem estar transitoriamente elevados. A dosagem do TSH por um ensaio de terceira geração pode ajudar a discriminar um TSH diminuído de doença não tireoidiana de um TSH suprimido devido à tireotoxicose¹⁸(B). O diagnóstico de tireotoxicose em um paciente seriamente enfermo com uma ou mais comorbidades é um desafio, não devendo ser feito apenas com a dosagem do TSH, pois o *stress* e o uso de diversas drogas podem suprimir o TSH¹²(B).

Os glicocorticóides apresentam múltiplos efeitos na função e medidas dos hormônios tireoidianos. Um dos efeitos bem conhecidos

da ação dos glicocorticóides é a supressão da secreção do TSH¹⁹(C). O diagnóstico de um hipotireoidismo ou hipertireoidismo coexistente é muito difícil em função da ação supressiva sobre o TSH.

A dopamina é de uso comum em pacientes hipotensos agudamente enfermos. Tanto ela como seu precursor, a L-dopa ou a bromocriptina, inibem diretamente a secreção de TSH, podendo normalizar os elevados níveis de TSH de pacientes hipotireoideos, suprimir os níveis de TSH de pacientes eutireoideos e bloquear a resposta do TSH ao TRH (hormônio liberador do TSH)²⁰(C). O efeito inverso é observado com metoclopramida, um antagonista dopaminérgico, que aumenta a secreção de TSH²¹(B).

Pacientes com anticorpos heterofílicos contra imunoglobulinas de camundongo podem apresentar falsas elevações na concentração do TSH em ensaios imunométricos que utilizam anticorpos de camundongos para medir o TSH²²(C). Este problema é usualmente prevenido pela inclusão nos ensaios de imunoglobulinas inespecíficas de camundongo.

AValiação DAS IODOTIRONINAS (T₄ E T₃) - TABELA 1

A tiroxina (T₄)_p é o principal hormônio secretado pela glândula tireóide. Cerca de 80% da triiodotironina (T₃) plasmática é derivada fora da tireóide através da 5'-monodeiodinação do T₄ nos diversos tecidos. Os hormônios tireoidianos circulam na corrente sanguínea quase que totalmente ligados às proteínas plasmáticas, apenas 0,02% do T₄ e 0,2% do T₃ circulam na forma livre²³(D).

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* tireoidiano²⁴(C).

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 pequena²⁵(D). Além disso, o TSH apresenta uma relação log-linear com as alterações do T₄ livre e também possui ensaios de alta sensibilidade. Atualmente, os métodos de análise permitem uma utilização conveniente e econômica do TSH e do T₄ livre⁴(B).

O T₄ total deve ser avaliado quando há discordância nos testes anteriormente citados²⁶(C).

O T₃ total ou livre é útil para definir a etiologia do hipertireoidismo; na Doença de Graves (DG), a relação T₃/T₄ está elevada, no hipertireoidismo induzido por amiodarona, o T₃ está paradoxalmente normal; no hipertireoidismo em áreas com deficiência de iodo, os níveis de T₄ estão baixos; para monitorar resposta aguda da tireotoxicose por DG e para detectar recorrência do hipertireoidismo após cessação da droga antitireoidiana²⁷(C). No entanto, o T₃ 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 severo²⁵(D).

As concentrações séricas de T_3 e T_4 total e livre são medidas por imunoenaios competitivos (IMAs)²⁸(B). O valor de referência para o T_4 total é de 4,5 a 12,6 mg/dl (58-160 nmol/L) e para o T_3 total de 80 a 180 ng/dl (1,2-2,7 nmol/L)²⁹(D).

Os métodos que são usados de rotina para medir T_3 e T_4 livre são dependentes de proteínas ligadoras de hormônios tireoidianos. Portanto, estes métodos não são totalmente confiáveis quando utilizados em pacientes portadores de doença não tireoidiana, de alterações nas proteínas transportadoras e de anticorpos anti- T_3 e T_4 ³⁰(B). Os valores de referência para os métodos diretos comparativos de T_4 livre são de 0,7 a 1,8 ng/dl (9 a 23 pmol/L), e do T_3 livre são de 23 a 50 pg/ml (35 a 77 pmol/L). No método direto absoluto que utiliza diálise de equilíbrio, considerado o método padrão ouro, o limite superior de normalidade do T_4 livre é de 2,5 ng/dl³¹(B).

SITUAÇÕES ESPECIAIS NA AVALIAÇÃO DE T_4 E T_3

A desnutrição, a inanição e o jejum causam diminuição do T_3 livre e total. Por outro lado, a superalimentação causa aumento dos mesmos³²(C).

O *stress*, seja físico ou emocional, causa aumento da atividade adrenocortical e inibe a produção de T_3 , com conseqüente diminuição dos níveis séricos de T_3 livre e total³³(B).

Alterações na absorção, encontradas mais comumente em pacientes submetidos à cirurgia intestinal, devem ser consideradas nos casos em que o TSH permanece elevado e o

T_4 e T_3 diminuídos após a terapia de reposição ter sido iniciada³⁴(B).

A má aderência ao tratamento deve ser considerada nos casos de aumento inapropriado de T_4 e TSH, que ocorre quando o paciente hipotireoideo usa a medicação apenas nos dias que antecedem o exame³⁵(B).

Alterações nas proteínas transportadoras de hormônio tireoidiano (HT), adquiridas ou herdadas geneticamente, causam alteração dos níveis séricos de T_3 e T_4 total. O aumento ou diminuição de TBG (globulina ligadora de tiroxina), principal proteína transportadora de HT, vai ocasionar um aumento ou diminuição do T_3 e do T_4 total com níveis séricos normais de TSH, T_3 e T_4 livres³⁶(C).

O paciente com doença não tireoidiana (DNT), em geral, está sob efeito de vários medicamentos que podem alterar tanto a função tireoidiana, como causar artefatos nos ensaios. A pouca especificidade na avaliação de TSH e T_4 livre é a base para que avaliação da função tireoidiana não seja feita de rotina nestes pacientes³⁷(D). Quando necessário, deve-se medir TSH com um ensaio sensível ($TSH < 0,02 \text{ mU/L}$) que vai diferenciar os pacientes hipertireoideos com TSH suprimido dos pacientes com TSH reduzido pela DNT³⁸(C). O paciente eutireoideo com DNT apresenta níveis transitoriamente reduzidos de TSH e valores normais ou baixos de T_3 e T_4 livre. O paciente com DNT e hipertireoidismo, em geral, apresenta TSH suprimido e valores normais ou elevados de T_3 e T_4 livre. O paciente hipotireoideo apresenta níveis normais ou elevados de TSH e baixos de T_3 e T_4 livre³⁰(B).

Vários estudos demonstraram que pacientes em tratamento com tiroxina exógena apresentam níveis séricos aumentados de T_4 livre e total em relação aos níveis séricos de TSH e T_3 , quando comparados com controles eutireoidianos e sem tratamento¹³(B). A ausência de secreção de T_3 pela tireóide pode explicar parcialmente esta diferença³⁹(C).

Os achados de hipotireoidismo materno causando efeitos adversos no desenvolvimento psicomotor fetal chamam a atenção sobre a importância de se fazer uma avaliação da função tireoidiana na gestação⁸(B). O T_3 e o T_4 livre diminuem no segundo e terceiro trimestre para cerca de 30% abaixo do valor médio normal. Os métodos dependentes de albumina podem fornecer resultados até 50% menores, devido à diminuição da albumina sérica nas gestantes. Em contraste, devido ao aumento de TBG durante a gestação, encontramos níveis séricos elevados de T_3 e o T_4 total⁴⁰(B).

A maioria das alterações da função tireoidiana observada com a amiodarona é semelhante às encontradas com contrastes iodados, que incluem uma marcada diminuição do T_3 e uma modesta elevação de T_4 , por uma marcada ação de inibição das enzimas 5'-desiodase do tipo 1 e 2⁴¹(B).

O hiperestrogenismo endógeno (gravidez, mola hidatiforme) ou exógeno acompanhado de elevação sérica dos níveis de TBG. Como consequência, encontramos níveis mais elevados de T_3 e T_4 com níveis normais de TSH⁴²(C). Em contraste, o androgênio diminui a concentração de TBG, e consequentemente, os níveis de T_3 e T_4 , sem alterar os níveis de TSH⁴³(B).

O ácido acetilsalicílico é a droga mais freqüentemente utilizada capaz de alterar os parâmetros de função tireoidiana. Ele compete com os hormônios tireoidianos na ligação com as proteínas transportadoras (TBG principalmente), levando a um aumento de T_3 e T_4 livres⁴⁴(C).

A difenilhidantoína possui uma ação dupla sobre os hormônios tireoidianos. Além de competir pela ligação com a TBG, acelera o metabolismo hepático de T_4 e T_3 , levando a uma diminuição dos seus níveis séricos sem, entretanto, alterar os níveis de TSH⁴⁵(C). O fenobarbital também aumenta o metabolismo hepático dos hormônios tireoidianos e a eliminação fecal de T_4 , podendo seus efeitos terem importância clínica quando utilizado em conjunto com difenilhidantoína e carbamazepina⁴⁶(C).

O efeito da heparina ao aumentar o T_4 livre é um importante fenômeno *in vitro*. A armazenagem ou a incubação de amostras de pacientes tratados com heparina induz a atividade da lipase lipoprotéica. Esta enzima aumenta a concentração de ácido graxo não esterificado com consequente aumento de T_3 e T_4 livre⁴⁷(C).

A maioria das interferências nos ensaios de T_4 e T_3 total e livre causa valores inapropriadamente anormais destes na presença de concentração sérica normal de TSH⁴⁸(B). As interferências nos imunoenaios (IMAs) podem ser atribuídas à reação cruzada, interações com drogas e presença de anticorpos (auto-anticorpos ou heterófilos). A prevalência destas interferências na população é de cerca de 0,1% a 2% e de cerca de 1% a 10% nas doenças tireoidianas⁴⁹(B).

Tabela 1

Concentrações séricas de T ₃ e o T ₄ total nas doenças da tireóide			
T ₄ sérico			
T ₃ sérico	baixo	normal	alto
baixo	Hipotireoidismo severo Deficiência de TBG DNT severa*	DNT* Medicações Feto Restrição nutricional	Tireotoxicose severa DNT* amiodarona
normal	Deficiência de iodo Tratamento com T ₃ hipotireoidismo		Tratamento com T ₄ FDH** Tireotoxicose + DNT* Anticorpos anti- T ₄
alto	Deficiência de iodo Tratamento com T ₃ Droga antitireoidiana	Toxicose por T ₃ Anticorpos anti- T ₃	Tireotoxicose Ingestão ↑ de T ₄ Excesso de TBG Resistência ao HT

* Doença não tireoidiana, **Hipertiroxinemia disalbuminêmica familiar

TESTES DE FUNÇÃO TIREOIDIANA VERSUS ACHADOS CLÍNICOS

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 tireoideano alterado;
- Medir T₄ livre utilizando método diálise de equilíbrio;

- Medir T₃ e T₄ total para esclarecer artefatos na medida de T₄ livre;
- Utilizar técnicas para remover ou identificar fatores interferentes.

AValiação DOS ANTICORPOS ANTITIREOIDIANOS

Os três principais antígenos tireoideanos envolvidos na patogênese das doenças auto-imunes da tireóide (DAT) foram identificados: tireoglobulina (Tg), tireoperoxidase (TPO) e receptor de TSH (TSH-R). Os anticorpos contra outros antígenos expressos na tireóide (simpporter de sódio-iodeto 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. Entretanto, em uma proporção significativa de indivíduos saudáveis, níveis de anticorpo antitireoglobulina (TgAb) e de antitireoperoxidase (TPOAb) podem ser detectados, variando de 9% a 25%⁵⁰(B).

Os TgAb estão presentes em 70% a 80% dos pacientes com tireoidite auto-imune (TA), em 30% a 40% dos pacientes com Doença de Graves (DG) e em 10% a 15% dos pacientes com doenças não auto-imunes da tireóide. Os métodos de RIA, IRMA e ELISA são recomendados para detecção de TgAb⁵¹(B).

O TgAb interfere nos ensaios de tireoglobulina (Tg), mesmo em ensaios ultra-sensíveis. Isso é importante em pacientes com câncer diferenciado de tireóide, nos quais a Tg é um marcador clínico após a tireoidectomia. O TgAb deve sempre ser dosado junto com a Tg em pacientes com câncer de tireóide e sua interferência deve ser considerada⁵²(B).

Os TPOAb 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 auto-imunes da tireóide. Os métodos IRMA de detecção são os mais sensíveis e devem ser usados preferencialmente⁵³(B).

Recomenda-se a dosagem de TgAb e TPOAb 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 auto-imune da tireóide pode ter níveis detectáveis de anticorpos. Assim sendo, outros testes clínicos são necessários para confirmar o diagnóstico de TA, como a ultrasonografia de tireóide⁵⁴(B). Independente da doença tireoidiana subjacente, os TPOAb são mais frequentemente observados do que os TgAb e constituem um índice de auto-imunidade mais sensível. Deve-se dar preferência ao TPOAb se restrições de custo forem necessárias⁵³(B).

Na DG, a dosagem sérica de TgAb e TPOAb pode auxiliar na demonstração da natureza auto-imune do hipertireoidismo, ainda que o TRAb seja mais específico⁵⁵(C).

Os ensaios de TgAb e TPOAg estão indicados durante o tratamento com amiodarona, interferon e lítio; essas drogas podem induzir alterações da função tireoidiana^{56,57}(B).

Com o tratamento da DG e do hipotireoidismo auto-imune, há evidências de que ocorre uma redução dos níveis de anticorpos⁵⁸(B).

Na gestação, a dosagem de TPOAb pode auxiliar a prever a probabilidade do desenvolvimento de tireoidite puerperal, que ocorre em 5% a 10% das mulheres neste período. Cerca de 50% das gestantes com TPOAb positivo vão apresentar a tireoidite puerperal, que é geralmente transitória⁵⁹(C).

Os anticorpos anti-receptores de TSH (TRAb) podem estimular diretamente a função tireoidiana ou inibir os efeitos biológicos

do TSH⁶⁰(C). O ensaio radioreceptor é um teste robusto e comercialmente disponível, mas mede tanto o anticorpo estimulador (TSAb) como o anticorpo bloqueador (TBAb). Os bioensaios *in vitro* de TSAb e TBAb baseiam-se na medida da produção de AMPc nas células tireoidianas humanas ou linhagens celulares e não têm aplicação clínica⁶¹(C).

O TRAb está presente no soro de mais de 90% dos pacientes com DG⁶²(B), mas sua utilidade diagnóstica é limitada. Os critérios clínicos e os testes comumente usados para avaliar o *status* da tireóide tornam o TRAb desnecessário na maioria dos pacientes⁶²(B). Problemas especiais podem justificar um ensaio de TRAb: hiperemese gravídica com tireotoxicose, hipertireoidismo subclínico com bócio difuso, oftalmopatia de Graves

eutireoidiana e diagnóstico diferencial do hipertireoidismo neonatal⁵⁵(C).

A tireotoxicose neonatal é diagnosticada em cerca de 2% das gestantes portadoras de DG. Para predizer esta disfunção tireoidiana, o TRAb deve ser dosado no terceiro trimestre gestacional, quando existe história prévia de hipertireoidismo neonatal ou quando a mãe teve DG no passado⁶³(B).

A prevalência de TRAb varia de 10% a 75% em pacientes com tireoidite atrófica, e de 0% a 20% em pacientes com tireoidite de Hashimoto⁶⁴(C). Altos títulos são observados nas mães de crianças com hipotireoidismo neonatal transitório. Para uma predição eficiente deste hipotireoidismo, recomenda-se a dosagem de TRAb durante a gravidez em mães com hipotireoidismo auto-imune⁶³(B) ⁶⁵(C).

REFERÊNCIAS

1. Spencer CA, LoPresti JS, Patel A, Guttler RB, Eigen A, Shen D, et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:453-60.
2. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH, Laurberg P. 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* 2002; 87:1068-72.
3. Chin WW, Carr FE, Burnside J, Darling DS. Thyroid hormone regulation of thyrotropin gene expression. *Recent Prog Horm Res* 1993; 48:393-414.
4. Hershman JM, Pekary AE, Berg L, Solomon DH, Sawin CT. Serum thyrotropin and thyroid hormone levels in elderly and middle-aged euthyroid persons. *J Am Geriatr Soc* 1993; 41:823-8.
5. Brabant G, Prank K, Ranft U, Schuermeyer T, Wagner TO, Hauser H, et al. Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:403-9.
6. Wardle CA, Fraser WD, Squire CR. Pitfalls in the use of thyrotropin concentration as a first-line thyroid-function test. *Lancet* 2001; 357:1013-4.
7. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, 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* 2002; 87:489-99.
8. 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.
9. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE, Williams JR, Mitchell ML, Hermos RJ, et al. Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *J Med Screen* 2000; 7:127-30.
10. Leung AS, Millar LK, Koonings PP, Montoro M, Mestman JH. Perinatal outcomes in hypothyroid pregnancies. *Obstet Gynecol* 1993; 81:349-53.
11. Radetti G, Gentili L, Paganini C, Oberhofer R, Deluggi I, Delucca A. Psychomotor and audiological assessment of infants born to mothers with subclinical thyroid dysfunction in early pregnancy. *Minerva Pediatr* 2000; 52:691-8.
12. Hamblin PS, Dyer SA, Mohr VS, Le Grand BA, Lim CF, Tuxen DV, et al. Relationship between thyrotropin and thyroxine changes during recovery from severe hypothyroxinemia of critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:717-22.
13. Fish LH, Schwartz HL, Cavanaugh J, Steffes MW, Bantle JP, Oppenheimer JH.

- Replacement dose, metabolism, and bioavailability of levothyroxine in the treatment of hypothyroidism: role of triiodothyronine in pituitary feedback in humans. *N Engl J Med* 1987; 316: 764-70.
14. Uy HL, Reasner CA, Samuels MH. Pattern of recovery of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis following radioactive iodine therapy in patients with Grave's disease. *Am J Med* 1995; 99:173-9.
 15. Miura Y, Perkel VS, Papenberg KA, Johnson MJ, Magner JA. Concanavalin-A, lentil, and ricin lectin affinity binding characteristics of human thyrotropin: differences in sialylation of thyrotropin in sera of euthyroid, primary, and central hypothyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69:985-95.
 16. Ross DS, Daniels GH, Gouveia D. The use and limitations of a chemiluminescent thyrotropin assay as a single thyroid function test in an out-patient endocrine clinic. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:764-9.
 17. Lee HY, Suhl J, Pekary AE, Hershman JM. Secretion of thyrotropin with reduced concanavalin-A-binding activity in patients with severe nonthyroid illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:942-5.
 18. Spencer C, Eigen A, Shen D, Duda M, Qualls S, Weiss S, et al. Specificity of sensitive assays of thyrotropin (TSH) used to screen for thyroid disease in hospitalized patients. *Clin Chem* 1987; 33:1391-6.
 19. Re RN, Kourides IA, Ridgway EC, Weintraub BD, Maloof F. The effect of glucocorticoid administration on human pituitary secretion of thyrotropin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 43:338-46.
 20. Kaptein EM, Spencer CA, Kamiel MB, Nicoloff JT. Prolonged dopamine administration and thyroid hormone economy in normal and critically ill subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:387-93.
 21. Samuels MH, Kramer P. Effects of metoclopramide on fasting-induced TSH suppression. *Thyroid* 1996; 6:85-9.
 22. Brennan MD, Klee GG, Preissner CM, Hay ID. Heterophilic serum antibodies: a cause for falsely elevated serum thyrotropin levels. *Mayo Clin Proc* 1987; 62:894-8.
 23. Bartalena L. Recent achievements in studies on thyroid hormone-binding proteins. *Endocr Rev* 1990; 11:47-64.
 24. Carvalho GA, Weiss RE, Vladutiu AO, Refetoff S. Complete deficiency of thyroxine-binding globulin (TBG-CD Buffalo) caused by a new nonsense mutation in the thyroxine-binding globulin gene. *Thyroid* 1998; 8:161-5.
 25. Stockigt JR. Free thyroid hormone measurement: a critical appraisal. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30:265-89.
 26. Sarne DH, Refetoff S, Nelson JC, Linarelli LG. A new inherited abnormality of

- thyroxine-binding globulin (TBG-San Diego) with decreased affinity for thyroxine and triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68:114-9.
27. Wang R, Nelson JC, Weiss RM, Wilcox RB. Accuracy of free thyroxine measurements across natural ranges of thyroxine binding to serum proteins. *Thyroid* 2000; 10:31-9.
28. Chopra IJ. A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34:938-47.
29. Klee GG. Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. *Clin Chem* 1996; 42:155-9.
30. Chopra IJ, Van Herle AJ, Teco GN, Nguyen AH. Serum free thyroxine in thyroidal and nonthyroidal illnesses: a comparison of measurements by radioimmunoassay, equilibrium dialysis, and free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:135-43.
31. Chopra IJ. Simultaneous measurement of free thyroxine and free 3,5,3'-triiodothyronine in undiluted serum by direct equilibrium dialysis/radioimmunoassay: evidence that free triiodothyronine and free thyroxine are normal in many patients with the low triiodothyronine syndrome. *Thyroid* 1998; 8:249-57.
32. Jahreis G, Kauf E, Fröhner G, Schmidt HE. Influence of intensive exercise on insulin-like growth factor I, thyroid and steroid hormones in female gymnasts. *Growth Regul* 1991; 1:95-9.
33. Poehlman ET, McAuliffe TL, Van Houten DR, Danforth E Jr. Influence of age and endurance training on metabolic rate and hormones in healthy men. *Am J Physiol* 1990; 259:E66-72.
34. Stone E, Leiter LA, Lambert JR, Silverberg JD, Jeejeebhoy KN, Burrow GN. L-thyroxine absorption in patients with short bowel. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59:139-41.
35. Watts NB. Use of a sensitive thyrotropin assay for monitoring treatment with levothyroxine. *Arch Intern Med* 1989; 149:309-12.
36. Carvalho GA, Weiss RE, Refetoff S. Complete thyroxine-binding globulin (TBG) deficiency produced by a mutation in acceptor splice site causing frameshift and early termination of translation (TBG-Kankakee). *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3604-8.
37. Stockigt JR. Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness. *Clin Chem* 1996; 42:188-92.
38. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, MacKenzie F, Beckett GJ, Wilkinson E. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays for thyrotropin (TSH) and impact on reliability of measurement of subnormal concentrations of TSH. *Clin Chem* 1995; 41:367-74.

39. Pearce CJ, Himsworth RL. Total and free thyroid hormone concentrations in patients receiving maintenance replacement treatment with thyroxine. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984; 288:693-5.
40. Roti E, Gardini E, Minelli R, Bianconi L, Flisi M. Thyroid function evaluation by different commercially available free thyroid hormone measurement kits in term pregnant women and their newborns. *J Endocrinol Invest* 1991; 14:1-9.
41. Burger A, Dinichert D, Nicod P, Jenny M, Lemarchand-Beraud T, Vallotton MB. Effect of amiodarone on serum triiodothyronine, reverse triiodothyronine, thyroxin, and thyrotropin: a drug influencing peripheral metabolism of thyroid hormones. *J Clin Invest* 1976; 58:255-9.
42. Glinoeir D, Fernandez-Deville M, Ermans AM. Use of direct thyroxine-binding globulin measurement in the evaluation of thyroid function. *J Endocrinol Invest* 1978; 1:329-35.
43. Gross HA, Appleman MD Jr, Nicoloff JT. Effect of biologically active steroids on thyroid function in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:242-8.
44. Larsen PR. Salicylate-induced increases in free triiodothyronine in human serum: evidence of inhibition of triiodothyronine binding to thyroxine-binding globulin and thyroxine-binding prealbumin. *J Clin Invest* 1972; 51:1125-34.
45. Hansen JM, Skovsted L, Lauridsen UB, Kirkegaard C, Siersbaek-Nielsen K. The effect of diphenylhydantoin on thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 39:785-9.
46. Rootwelt K, Ganes T, Johannessen SI. Effect of carbamazepine, phenytoin and phenobarbitone on serum levels of thyroid hormones and thyrotropin in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 1978; 38:731-6.
47. Mendel CM, Frost PH, Kunitake ST, Cavalieri RR. Mechanism of the heparin-induced increase in the concentration of free thyroxine in plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:1259-64.
48. Sakata S, Matsuda M, Ogawa T, Takuno H, Matsui I, Sarui H, et al. Prevalence of thyroid hormone autoantibodies in healthy subjects. *Clin Endocrinol* 1994; 41:365-70.
49. Vyas SK, Wilkin TJ. Thyroid hormone autoantibodies and their implications for free thyroid hormone measurement. *J Endocrinol Invest* 1994; 17:15-21.
50. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43:55-68.
51. Mariotti S, Pisani S, Russova A, Pinchera A. A new solid-phase immunoradiometric assay for anti-thyroglobulin autoantibody. *J Endocrinol Invest* 1982; 5:227-33.
52. Mariotti S, Barbesino G, Caturegli P, Marino M, Manetti L, Pacini F, et al. Assay

- of thyroglobulin in serum with thyroglobulin autoantibodies: an unobtainable goal? *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:468-72.
53. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:661-9.
54. Marcocci C, Vitti P, Cetani F, Catalano F, Concetti R, Pinchera A. Thyroid ultrasonography helps to identify patients with diffuse lymphocytic thyroiditis who are prone to develop hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72:209-13.
55. Macchia E, Concetti R, Borgoni F, Cetani F, Fenzi GF, Pinchera A. Assays of TSH-receptor antibodies in 576 patients with various thyroid disorders: their incidence, significance and clinical usefulness. *Autoimmunity* 1989; 3:103-12.
56. Watanabe U, Hashimoto E, Hisamitsu T, Obata H, Hayashi N. The risk factor for development of thyroid disease during interferon-alpha therapy for chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:399-403.
57. Martino E, Aghini-Lombardi F, Bartalena L, Grasso L, Loviselli A, Velluzzi F, et al. Enhanced susceptibility to amiodarone-induced hypothyroidism in patients with thyroid autoimmune disease. *Arch Intern Med* 1994; 154:2722-6.
58. Chiovato L, Marcocci C, Mariotti S, Mori A, Pinchera A. L-thyroxine therapy induces a fall of thyroid microsomal and thyroglobulin antibodies in idiopathic myxedema and in hypothyroid, but not in euthyroid Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest* 1986; 9:299-305.
59. Glinoeer 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.
60. Takasu N, Yamashiro K, Ochi Y, Sato Y, Nagata A, Komiya I, et al. TSBAb (TSH-stimulation blocking antibody) and TSAb (thyroid stimulating antibody) in TSBAb-positive patients with hypothyroidism and Graves' patients with hyperthyroidism. *Horm Metab Res* 2001; 33:232-7.
61. Vitti P, Valente WA, Ambesi-Impiombato FS, Fenzi GF, Pinchera A, Kohn LD. Graves' IgG stimulation of continuously cultured rat thyroid cells: a sensitive and potentially useful clinical assay. *J Endocrinol Invest* 1982; 5:179-82.
62. Takasu N, Oshiro C, Akamine H, Komiya I, Nagata A, Sato Y, et al. Thyroid-stimulating antibody and TSH-binding inhibitor immunoglobulin in 277 Graves' patients and in 686 normal subjects. *J Endocrinol Invest* 1997; 20:452-61.
63. Brown RS, Bellisario RL, Botero D, Fournier L, Abrams CA, Cowger ML, et al. Incidence of transient congenital hypothyroidism due to maternal thyrotropin receptor-blocking antibodies in over one million babies. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1147-51.

64. Chiovato L, Vitti P, Santini F, Lopez G, Mammoli C, Bassi P, et al. Incidence of antibodies blocking thyrotropin effect in vitro in patients with euthyroid or hypothyroid autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:40-5.
65. Tamaki H, Amino N, Aozasa M, Mori M, Iwatani Y, Tachi J, et al. Effective method for prediction of transient hypothyroidism in neonates born to mothers with chronic thyroiditis. *Am J Perinatol* 1989; 6:296-303.