

Análisis comparativo entre la TSH de tercera generación y la prueba de estimulación con TRH en pacientes con hipertiroidismo, hipotiroidismo y sujetos normales

William Kattah, William Rojas, Stella Acosta, Eric Hernández,
Tatiana López, Rosalba Suárez, Clara López de Mesa

El análisis de la hormona tiroestimulante (TSH) de tercera generación permite la diferenciación de pacientes con hipertiroidismo real y pacientes con niveles suprimidos de TSH asociados con otras patologías, lo cual era imposible determinar con los análisis de primera y segunda generación. La sensibilidad funcional (0,001 mUI/L) y la analítica (0,002 mUI/L) permiten establecer esta diferenciación.

Con la hipótesis de que la TSH de tercera generación es tan sensible como la prueba de estimulación con la hormona liberadora de tirotrópina TRH y podría reemplazarla, se estudiaron 111 personas, 46 con hipotiroidismo, 29 con hipertiroidismo y 36 controles sanos a quienes se les tomó una muestra basal de TSH y se les administraron 200 ug IV de TRH obteniendo muestras 30, 60 y 90 minutos post TRH. La medición de TSH se llevó a cabo con reactivos del sistema immulite (DPC).

Las edades de los tres grupos

fueron similares, hipotiroidismo $42,2 \pm 13,44$, hipertiroidismo $43,93 \pm 17,03$ y los controles sanos $37,75 \pm 11,5$. Los sujetos normales mediante el análisis percentilar mostraron cifras de TSH basal de 0,446 para el P 5, y de 3,52 para el P 95, a los 30 min de 4,11 para el P 5 y 25,9 para el P 95, a los 60 minutos de 2,82 para el P 5 y 17,6 para el P 95 y a los 90 minutos de 1,9 para el P 5 y 14,81 para el P 95. Se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre la TSH basal y la TSH a los 30,60 y 90 min post TRH. tanto en controles normales como en pacientes con hipotiroidismo e hipertiroidismo siendo estas últimas las de mayor significación. $R = 0,96, 0,98$ y $0,97, 30,60$ y 90 min respectivamente.

De los 29 pacientes con diagnóstico de hipertiroidismo, 25 (86,2%) tuvieron TSH menores de 0,44 mUI/L, mostrando respuesta plana a la estimulación con TRH. Los restantes cuatro (15,8%)

tuvieron niveles de TSH mayores de 0,44 mUI/L con respuesta al TRH directamente proporcional a sus valores; en estos pacientes con hipertiroidismo la TSH basal y la respuesta esperada a la TRH se vieron modificadas por circunstancias inherentes al curso natural del hipertiroidismo de acuerdo con la causa que lo originó. Lo anterior nos permite afirmar que un valor de TSH de tercera generación por debajo de 0,44 mUI/L tiene la misma sensibilidad que la prueba de TRH en el diagnóstico de hipertiroidismo.

Dr. William Kattah: Jefe Sección de Endocrinología, Fundación Santa Fe de Bogotá, Profesor Universidad del Rosario; Dr. William Rojas: Jefe Servicio de Endocrinología, Hospital de San José, Universidad del Rosario; Dra. Stella Acosta: Endocrinóloga Hospital de San José y Fundación Santa Fe de Bogotá; Dr. Eric Hernández: Médico Endocrinólogo Clínica de Marly, Coordinador de Medicina Interna, Hospital de San José, Universidad del Rosario; Dra. Tatiana López: Endocrinóloga Instituto Nacional de Cancerología y Hospital de San José. Universidad del Rosario; Dra. Rosalba Suárez: Bacterióloga Colegio Mayor de Cundinamarca, Asesora Científica, Vélez Lab; Dra. Clara López de Mesa: Bioestadística Santa Fe de Bogotá Universidad Nacional de Colombia.

Con la introducción de la protirelina sintética (TRH) en 1969 (1), la prueba de estimulación con esta proteína llegó a ser el estándar de oro en el diagnóstico del estado funcional de la glándula tiroides (2). La prueba para obtener la máxima respuesta de estimulación de secreción de TSH utiliza dosis que oscilan entre 200 y 500 ug intravenosos obteniendo la máxima respuesta de TSH entre 15 y 30 minutos post administración (3, 4). La respuesta normal oscila entre 2,5 mU/L y 25 mU/L en sujetos normales (2-5); cifras por debajo de 2,5 mU/L se consideran como respuesta bloqueada y mayor de 25 mU/L como respuesta exagerada o hiper-respuesta. En presencia de un eje hipotálamo-Hipófisis-tiroides intacto la respuesta bloqueada se asimiló a hipertiroidismo y la respuesta exagerada a hipotiroidismo (2). Por muchos años esta prueba continuó siendo de amplio uso, justificada por la baja sensibilidad funcional (SF) que poseían las pruebas de primera generación (6).

La Asociación Americana de Tiroideología (AAT) en 1987 resolvió promover el desarrollo de pruebas de TSH sensible que permitieran una discriminación mayor entre las cifras de sujetos normales y pacientes con hipertiroidismo (6), diferencia que era imposible establecer con la técnica tradicional de radioinmunoanálisis (RIA) hasta entonces disponible debido a la baja SF y analítica (SA) que poseía (1,0 mUI/L y 0,4 mUI/L respectivamente), lo cual le daba una confiabilidad aplicable solamente a resultados por encima de 0,5 mUI/L, llegando a presen-

tarse hasta 20% de sujetos sanos con cifras iguales o menores a ésta. La AAT fijó como requerimiento mínimo para que una prueba se considerara sensible cuando el suero de un paciente con hipertiroidismo estuviera por debajo de tres desviaciones estándar del promedio de sujetos normales o que el 99% de los pacientes con hipertiroidismo estuviesen por debajo del límite inferior de lo normal (6).

La introducción de pruebas inmunométricas (IMA) fueron la primera aproximación para la obtención de estos análisis ultrasensibles de TSH. El IMA consiste en la reacción entre un primer anticuerpo, un segundo anticuerpo marcado dirigidos en este caso contra la TSH, dando una reacción de atrapamiento de ésta entre los dos anticuerpos, reacción tipo *sandwich* (7). El primer anticuerpo es de tipo monoclonal y está dirigido contra la subunidad beta y por lo general viene unido a las paredes del tubo o a esferas (Fase sólida). El segundo anticuerpo está dirigido contra la subunidad alfa de la TSH marcado ya sea por un isótopo radioactivo (125), caso en el cual se denomina método IRMA o inmunorradiométrico o por una molécula no radioactiva como el fluoruro, caso en el cual se denomina IFMA o método inmunofluorométrico o una enzima, caso en el cual se conoce como IEMA o inmunoenzimométrico.

La SF de estas pruebas es de 0,1 mIU/L y la SA 0,03 mIU/L y son conocidos como TSH de segunda generación. Sin embargo, el coeficiente de variación (CV) de estas pruebas es alto llegando hasta 15% en el límite inferior de lo normal y hasta 40% cuan-

do está por debajo de 0,1 mUI/L. Por este motivo surgieron las pruebas de tercera generación (8) las cuales utilizan una sustancia luminiscente que es capaz de emitir luminiscencia medible hasta 1.000 veces en 10 minutos y de esta manera le permite ganar una alta sensibilidad a la prueba, que llega a ser unas 10 a 20 veces mayor que el IRMA (7). En general estos métodos se conocen con el nombre de ICMA (7, 9, 10).

La TSH de tercera generación permite establecer la diferencia entre estados de hipertiroidismo subclínico y de enfermedad no tiroidea (16) de profundas reducciones en estados de tirotoxicosis (<0,005 mUI/L), lo cual no se podía obtener con las pruebas de segunda generación. La SF de 0,01 mIU/L y SA de 0,002 son las características que le permiten establecer esta diferencia (6, 8). Recientemente se ha introducido la TSH de cuarta generación, la cual posee una SF de 0,001. En la actualidad está en proceso de estandarización y su utilidad clínica está aún por establecerse (11).

La prueba de TRH era utilizada tradicionalmente para confirmar la presencia de hipertiroidismo en pacientes cuyo diagnóstico fuera equívoco por alguna razón y era considerado como el patrón de oro, pero a raíz del advenimiento de la TSH de tercera generación su utilidad se limitó y ha sido relegado a indicaciones muy precisas como la evaluación de la reserva hipofisiaria de secreción de TSH, la respuesta fisiológica de la prolactina y paradójica de la hormona de crecimiento en pacientes con neoplasias productoras de hormona de crecimiento (12, 13).

Esto nos motivó a realizar esta investigación con la hipótesis de que la TSH de tercera generación es tan sensible como la prueba de TRH en el diagnóstico de pacientes con hipertiroidismo

Material y métodos

Se estudiaron 111 personas en forma ambulatoria; 46 con hipotiroidismo, 29 con hipertiroidismo y 36 controles sanos. Los pacientes provenían de las consultas de endocrinología de la Fundación Santa Fe de Bogotá y del Hospital de San José.

El diagnóstico del hipertiroidismo y del hipotiroidismo se basó en el cuadro clínico y la anomalía de las pruebas de función tiroidea que confirmaban dicho diagnóstico en el momento del examen. Los controles sanos fueron personas voluntarias a quienes por cualquier motivo se les había practicado antes de un año pruebas de función tiroidea y habían resultado normales y su examen físico excluía la sospecha de enfermedad tiroidea.

Dentro de los criterios de inclusión para los pacientes con hipertiroidismo y con hipotiroidismo se consideraron la edad que oscilara entre 20 y 80 años, la evolución mínima de ocho semanas de la sintomatología clínica y la ausencia de tratamiento farmacológico. Los criterios de exclusión considerados en el protocolo fueron: pacientes con ingesta de medicamentos que pudieran alterar la función del eje hipotálamo-hipofisis-tiroides (14), antecedentes de enfermedad hipotálamo-hipofisiaria previa (15), antecedentes de cirugía o radioterapia en región selar (12), anteceden-

tes de síndromes de resistencia a la acción de las hormonas tiroideas (12), mujeres embarazadas (12), mujeres en puerperio inmediato o con antecedente de parto antes de seis meses y utilización reciente de medios de contraste yodados (12).

Después de llenar un protocolo y de haber firmado su aceptación voluntaria para ingresar al estudio todos los sujetos se presentaron en estado de ayuno al Laboratorio Endocrino Vélez LAB permaneciendo en reposo durante la prueba. Se tomó una muestra basal de 10 cc, entre las 7 y 9 a.m., obteniendo suero por centrifugación para la determinación de TSH de tercera generación y se les administró 200 ug de TRH IV obteniendo muestras 30, 60 y 90 minutos después de la administración del TRH de la misma manera que la muestra basal para la medición de la TSH.

Las muestras de suero fueron refrigeradas a menos 20 grados Celsius y analizadas posteriormente. Para la determinación de la TSH se utilizaron reactivos del sistema immulite, de tercera generación con tecnología de quimioluminiscencia amplificada y centrifugación vertical, con un segundo anticuerpo monoclonal unido a la fosfatasa alcalina y el adamantyl dióxetano como sustancia luminiscente.

El análisis estadístico se realizó en un computador IBM con programa para Windows 3.11, Excel y SSPS. Se realizó análisis percentilar, prueba de Anova y prueba de Duncan para buscar la significación entre y dentro de los grupos y la prueba de oro para hallar el valor de un método diagnóstico en relación con un método de referencia.

Resultados

Las edades de los pacientes con hipertiroidismo y con hipotiroidismo fueron similares; $43,93 \pm 17,03$ y $42,2 \pm 13,44$ respectivamente. El grupo de control sano tuvo un promedio de $37,75 \pm 11,5$.

La mayoría de los sujetos del estudio fueron mujeres; en el grupo de hipertiroidismo hubo tres hombres y 28 mujeres, en el grupo de hipotiroidismo seis hombres y 40 mujeres y en el grupo de controles sanos se encontraron dos hombres y 34 mujeres. Por el escaso número de hombres no se realizaron pruebas para buscar diferencias entre sexos.

Las cifras de TSH basales, 30, 60 y 90 post estimulación con TRH en sujetos normales, con hipertiroidismo e hipotiroidismo de acuerdo con el análisis de percentiles se observan en las tablas 1 y 2. Como se ve en estas tablas y en la figura 1, las cifras de normalidad para TSH basal oscilaron entre 0,448 y 3,93 mUI/L, 4,11 y 25,9 mUI/L a los 30 minutos, 2,82 y 17,66 a los 60 minutos y 1,9 y 14,81 a los 90 minutos. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre y dentro de los grupos estudiados con una $P < 0,0002$.

Al practicar la prueba de correlación lineal en sujetos normales, relacionando la TSH basal con la respuesta a la estimulación con TRH. 30, 60 y 90 minutos post TRH mostró coeficientes de correlación positiva de 0,55, 0,45 y 0,61, 30, 60 y 90 minutos respectivamente. El mismo análisis se realizó en pacientes con hipotiroidismo mostrando correlaciones de 0,62, 0,69 y 0,75; 30, 60 y 90 minutos post TRH

TSH de tercera generación

	P5	P50	P95
Grupo control	0,446	2,09	3,52
Hipertiroidismo	0,002	0,006	0,485*
Hipotiroidismo	3,32	7,01	130,15*

*P<0,001

Los rangos de normalidad oscilaron entre 0,446 y 3,52 mUI/L. Se realizó el análisis de sensibilidad y especificidad de la prueba, sus resultados se observan en las figuras 3 y 4.

Tabla 1. Análisis percentilar de la TSH basal en pacientes con hipertiroidismo, hipotiroidismo y sujetos normales.

	30 minutos	60 minutos	90 minutos
Normales			
P 5	4,11	2,82	1,9
P 50	14,1	9,40	7,05
P 95	25,9	17,6	14,81
Hipertiroides			
P 5	0,002	0,002	0,002
P 50	0,0085	0,03	0,16
P 95	7,37	5,61	4,12
Hipotiroides			
P 5	4,28	15,4	10,77
P 50	51	32,8	23
P 95	561	429	268

Tabla 2. Análisis percentilar de la TSH post TRH en pacientes con hipertiroidismo, hipotiroidismo y sujetos normales.

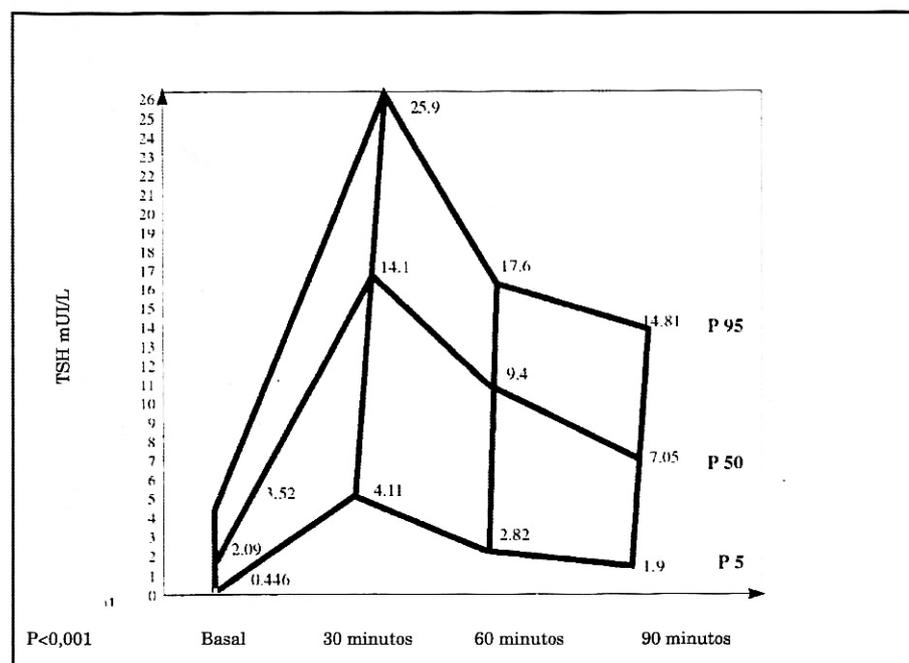


Figura 1. TSH de tercera generación en sujetos normales basales y post 200 mcg TRH 30, 60 y 90 minutos.

respectivamente. Los pacientes con hipertiroidismo evidenciaron 0,96, 0,98 y 0,97, 30, 60 y 90 minutos (Figura 2).

Teniendo en cuenta la prueba de TRH como método de referencia, se calcularon la sensibilidad y la especificidad, el valor predictivo positivo y negativo de la TSH de tercera generación para pacientes con hipotiroidismo e hipertiroidismo con respecto al grupo control. Se encontró una sensibilidad del 87% y una especificidad del 97%, con un valor predictivo positivo y negativo de 97,6 y 85% para pacientes con hipotiroidismo. Los pacientes con hipertiroidismo mostraron una sensibilidad y especificidad del 86 y 97,1 % respectivamente y valores predictivos positivo y negativo del 96,11 y del 89%. La confiabilidad global de la prueba resultó en 92% (Figuras 3 y 4).

Seis (13%) de los pacientes con el diagnóstico de hipotiroidismo mostraron cifras de TSH basal dentro de límites normales durante la práctica de la prueba a pesar de que todos tuvieron exámenes anormales previamente; cuatro de ellas tenían bocio difuso y otras dos antecedentes de obesidad. Tres de estas pacientes tuvieron TSH mayor de 25,9 mIU/L a los 30 minutos después de la estimulación con TRH y todas ellas presentaban bocio. De los 29 pacientes con el diagnóstico de hipertiroidismo, 25 (84,8%) tuvieron TSH menor de 0,4 mUI/ml, mostrando respuesta plana la prueba de estimulación con TRH. los cuatro restantes (15,2%) tuvieron respuesta proporcional a las cifras basales y en ninguno de los cuatro la prueba de TRH pudo hacer el diagnóstico de hipertiroidismo

de acuerdo con los parámetros normales encontrados en nuestro estudio. Se trataba de un caso de tiroiditis subaguda, tres casos de tiroiditis silenciosa, que inicialmente cursaron con hipertiroidismo demostrado por los análisis de función tiroidea con los cuales ingresaron al estudio. En el grupo de sujetos normales una paciente tuvo la TSH basal discretamente elevada pero fue normal con la prueba de TRH. Otro paciente mostró una TSH ligeramente por debajo del límite normal y su respuesta al TRH aunque normal se acercaba a los límites bajos de normalidad.

En la figura 5 se observa la distribución logarítmica de los tres grupos de pacientes estudiados. Se puede observar una clara diferencia en la distribución de los puntos con muy discreto entrecruzamiento.

Discusión

En el presente estudio se demuestra que la prueba de TRH puede ser reemplazada por el TSH de tercera generación y en este caso de manera específica por la técnica de quimioluminiscencia con amplificación enzimática y centrifugación vertical que posee el sistema immulite. Los niveles de normalidad de la TSH basal tercera generación encontrados en el grupo de sujetos normales hacia el límite inferior y superior, correspondientes a los percentiles cinco y 95 fueron de 0,448 y 3,93 respectivamente, similares a los patrones de normalidad de la mayoría de los laboratorios y centros de investigación que utilizan esta tecnología (11, 12). La respuesta de la TSH a la prueba de estimulación con TRH mostró su máxima elevación a

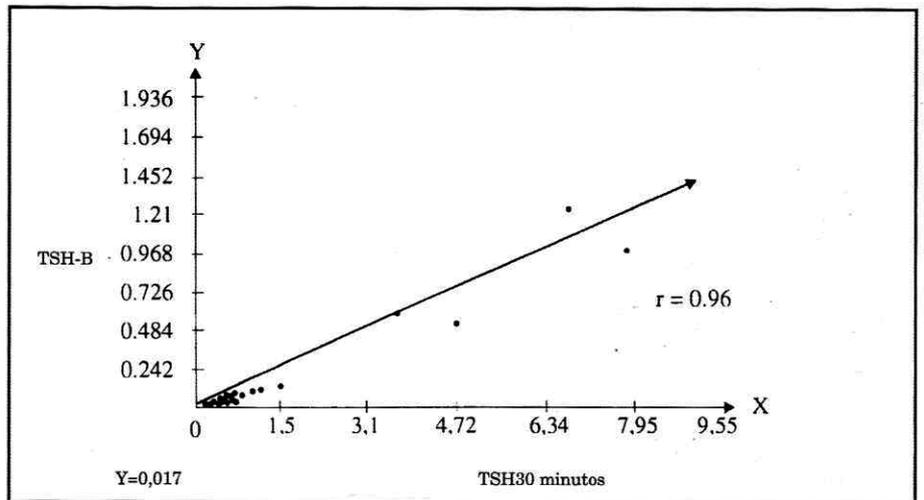


Figura 2. Correlación TSH B y TSH 30 minutos POST TRH y pacientes con historia de hipertiroidismo previo.

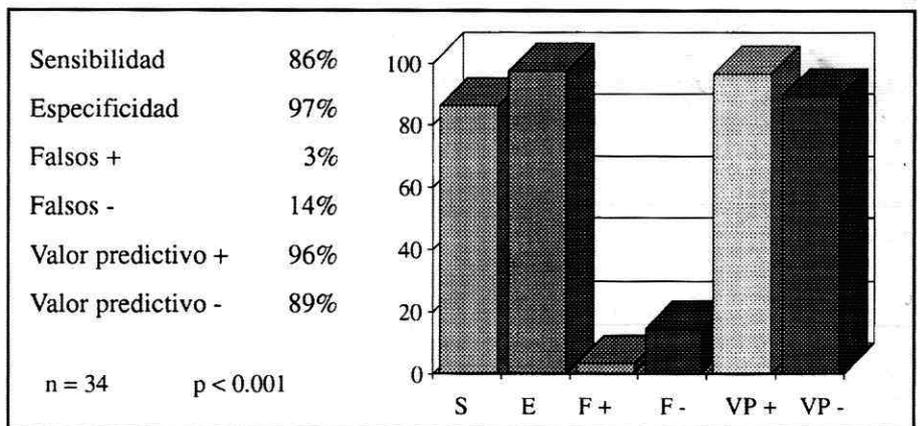


Figura 3. TSH tercera generación: pacientes hipotiroides y sujetos normales.

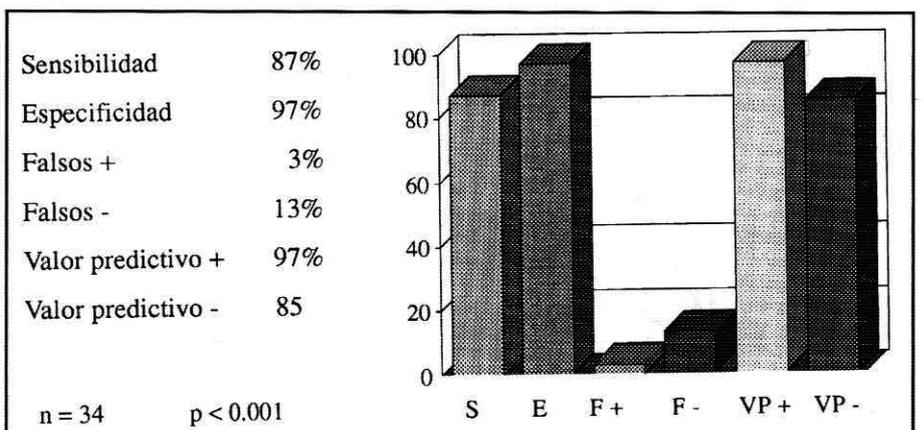


Figura 4. TSH tercera generación: pacientes hipertiroides y sujetos normales.

TSH de tercera generación

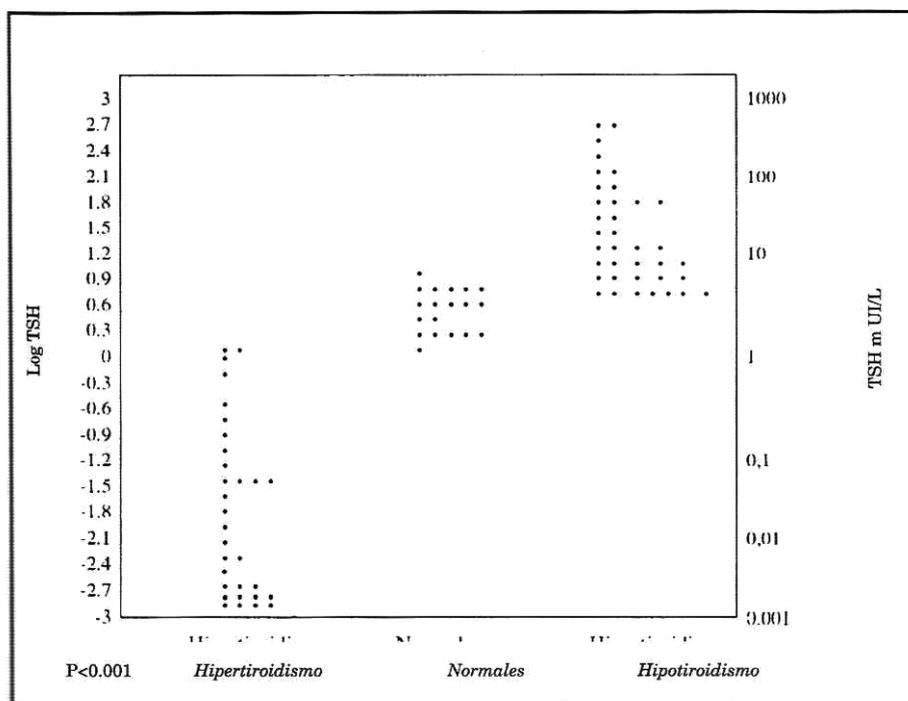


Figura 5. TSH tercera generación: análisis logarítmico en sujetos normales y pacientes con hipertiroidismo e hipotiroidismo.

los 30 minutos y correspondió a cifras que oscilaron entre 4.11 y 25, 98 para los percentiles cinco y 95 respectivamente, valores similares a los informados en la literatura y utilizados como referencia en la mayoría de los laboratorios (9-11). El comportamiento de la curva correspondió a lo esperado en sujetos normales.

Para el diagnóstico de hipertiroidismo en los pacientes catalogados como tales durante la selección, la TSH basal fue inequívoca en 25 de los 29, encontrando cuatro pacientes con cifras por encima del límite inferior de normalidad, lo cual influyó en la sensibilidad de la prueba llevándola a niveles del 86%. Sin embargo, estos cuatro pacientes que en el momento de la selección fueron hipertiroides, evolucionaron hacia la mejoría y en el momento de la toma de la muestra basal y la prueba de TRH eran eutiroideos.

La sensibilidad de la prueba a pesar de ser buena, posiblemente hubiese sido mayor si este cambio no hubiese sucedido. La prueba de TRH realizada en estos pacientes no aportó ninguna información adicional a la ya obtenida con la TSH basal de tercera generación, situación que nos permite excluir esta prueba en el diagnóstico de hipertiroidismo. Por esta razón y en vista de las diversas publicaciones hechas en este sentido pensamos que la TSH de tercera generación puede considerarse como el nuevo patrón de oro en el diagnóstico de supresión tiroidea, ya sea por hipertiroidismo primario o por la ingesta de hormona tiroidea. La posibilidad que permite esta prueba para establecer la diferencia entre pacientes hospitalizados crónicamente enfermos con TSH suprimida (13, 16,17) de aquéllos que sufren realmente un hipertiroidismo reafirma su gran utilidad.

La sensibilidad y especificidad de la prueba en los pacientes con hipotiroidismo mostraron resultados muy similares a los informados en hipertiroidismo. Aunque el paso espontáneo de un estado de hipotiroidismo a un estado de normalidad es menos probable, podría ser una explicación, pero lo más seguro es la gran variabilidad existente hacia el límite superior de normalidad de la TSH basal donde existe un alto entrecruzamiento con la normalidad. En los rangos cercanos al límite superior de lo normal o en ligeros aumentos de los niveles de TSH, otras pruebas complementarias pueden predecir si este paciente desarrollará o no una enfermedad tiroidea autoinmune como es la determinación de los anticuerpos antitiroideos (18).

En el análisis del costo de una nueva prueba de laboratorio es necesario tener en cuenta dos elementos (19). Uno de ellos es el costo de laboratorio como tal y el otro la efectividad clínica de la prueba en desarrollo. En cuanto al primer punto la TSH de tercera generación y en particular la utilizada en nuestra investigación evidencia una disminución en el tiempo de ejecución del examen por parte del laboratorio por su excelente automatización y costo del reactivo no superior a otras pruebas tradicionales. En cuanto a la efectividad clínica, por su gran sensibilidad permite eliminar la necesidad de la realización de la prueba de TRH en la mayoría de los pacientes en quienes anteriormente estaba indicado, con la consecuente disminución de costo por minimización del tiempo en la toma de la muestra tanto para el paciente como para la técnica de laboratorio y disminución en el costo de la prueba

por la eliminación del reactivo de TRH y de un análisis de TSH y el establecimiento de una terapia adecuada en un menor lapso. Esto sería aún más aplicable a los pacientes hospitalizados que requieren una evaluación de la función tiroidea.

En la actualidad, gracias a la alta sensibilidad de la TSH de tercera generación se han reconocido como indicaciones absolutas de ésta; el monitoreo de la terapia de reemplazo hormonal con hormona tiroidea, el monitoreo de la terapia supresiva para cáncer, la prueba de elección para investigación de enfermedad tiroidea o exclusión de la misma y la investigación de estados de hipersecreción de TSH (6).

Por otra parte se considera que no estaría indicada (6) como examen aislado en pacientes con enfermedades hipotálamo-hipofisarias, pacientes críticamente enfermos que reciban medicaciones como dopamina o glucocorticoides (13, 20), monitoreo de la función tiroidea durante fases de transición de estados de hipertiroidismo o hipotiroidismo. Finalmente y en consideración a los hallazgos de nuestra investigación podemos afirmar que el valor de TSH por debajo de 0,4 mUI/L tiene la misma sensibilidad que la prueba de TRH en el diagnóstico del hipertiroidismo y por lo tanto podría reemplazarlo.

Summary

The analysis of third generation TSH became a test of choice for differentiation between patients with real hyperthyroidism and those with suppressed TSH levels associated with other pathology. First and second generation tests were characteristically unable to make that differentiation.

The functional sensitivity (0.001 mUI/L) and analytic sensitivity (0.002 mUI/L) of the third generation studies permit an improvement. With the hypothesis that this test could be as sensitive as TRH stimulation test, we studied 111 people, 46 with hypothyroidism, 29 with hyperthyroidism and 36 healthy controls. Basal samples were obtained and 200 ug of TRH were administered IV and then samples of serum were obtained at 30, 60 and 90 minutes afterwards. TSH measurements were done by the system IMMULITE (DPC) which uses a chemoluminescence reader with vertical centrifugation. Statistically significant findings were found between basal TSH levels and those at 30.60.90 min post TRH stimulation and the differences were most significant in the hyperthyroid patients. Our findings suggest that the TSH third generation test has the same diagnostic sensitivity for hyperthyroidism when levels are below 0.44 mUI/L than that of the TRH stimulation test.

Referencias

1. Fleiser NR, Burgus R, Vale W, Dunn T, Gillem R. Preliminary observations on the effect of synthetic thyrotropin releasing factor on plasma thyrotropin releasing factor on plasma thyrotropin levels in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; **31**:109-112.
2. Haigler DE, Pittman JA, Hershman JM, Bauch CM. Direct evaluation of pituitary thyrotropin reserve utilizing synthetic thyrotropin releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; **33**: 573-581
3. Utiger RD. Response to thyrotropin releasing hormone. The thyroid. 4th de Werner SC, Ingbar (Editors). Harper Row. 1978.
4. Sawin CT, Herhman JM. The TSH response to thyrotropin releasin hormone (TRH) in young adult men: intraindividual variation and relation to basal serum TSH and thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab*; **42**: 809-816
5. Faggia G, Beck-Peccoz, Ambrosi B, Ferrari C, Travaglino P. The effect of a synthetic thyrotropin releasing hormone (TRH) in normal and endocrinopathic subjects. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1972; **71**: 209-225.
6. Nicoloff J, Spencer C. The Use and Misuse of Sensitive Thyrotropin Assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; **71**:553-558
7. Aschner P. TSH Ultrasensible. Su utilidad actual, en Memorias 5 Curso Anual de Actualizaciones en Medicina Interna. Fundación Santa Fe de Bogotá. *Acta Med Colomb* (Ed). Santa Fe de Bogotá 1992: 192-198
8. Spencer CA. Thyroid profiling for the 1990. Free T4 estimate or sensitive TSH measurement. *J Clin Immunol* 1989; **12**: 82-89
9. Spencer CA, Lo Presti JS, Patel A, et al. Applications of the new chemiluminescent thyrotropin assay to subnormal measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; **70**: 452-460
10. Ross DA, Ardison LJ, Meskell MJ. Measurement of thyrotropin in clinical and subclinical hyperthyroidism using a new chemiluminescent assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; **69**: 684-8
11. Spencer CA, Schwarzbein D, Guttler RB, LoPresti JS, Nicoloff JT. Thyrotropin (TSH) -releasing hormone stimulation test responses employing third and fourth generation TSH assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; **76**: 494-8
12. Greenspan F. The Thyroid Gland in Basic Clinical Endocrinology. Greenspan F and Baxter J (Eds). 4th ed. Prentice Hall international. Englewood Cliff. New Jersey 1994: 160-226.
13. Singer P. Thyroid Function Test and Effects of Drugs on Thyroid Function in Lavin N (Ed). Little, Brown and Company. Boston Toronto 1986: 3413.
14. Refetoff S. Thyroid Function tests and Effects of Drugs on Thyroid Function, in Endocrinology. DeGroot L (Ed) Saunders Company. Philadelphia. 1989: 590-639.
15. Faggia G, Bitensky L, Pinchera A, Ferrari C, Paracchi A, Beck-Peccoz et al. Thyrotropin secretion in patients with central hypothyroidism: evidence for reduces biological activity of immunoreactive thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; **48**: 989-998
16. Nicoloff J, Lopresti J. Non-thyroideal illness. In: Braverman LE, Utiger RD, eds. The thyroid. 6 th de Philadelphia: J. B. Lipincott. 1993: 357-367.
17. Lum SMC, Kaptein EM, Nicoloff JT. Influences of non-thyroideal illnesses on serum thyroid hormones indices in hyperthyroidism. *West J Med* 1983; **138**: 670-675.
18. Hawkins BR, Cheah PS, Dawkins RL, Whittigham S, Burger HG, Patel Y, Mackay IR, Welborn TA. Diagnostic significance of thyroid microsomal antibodies in randomly selected populations. *Lancet* 1980; **2**: 1057-1059.
19. Spencer CA. Clinical utility and cost-effectiveness of sensitive thyrotropin assays in ambulatory and hospitalized patients. *Mayo Clinics Proc* 1988; **63**: 1214-1222
20. Kaptein EM, Spencer CA, Kamiel MB, Nicoloff JT. Prolonged dopamine administration and thyroid hormone economy y normal and critically ill subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; **51**: 387-393.