



美国国家临床生化学院
The National Academy of
Clinical Biochemistry (NACB)

This document
is now archived
per NACB and
National
Guideline
Clearinghouse
policy.

检验医学应用准则 甲状腺疾病诊断与监测的实验室支持 (中文版)

LABORATORY MEDICINE PRACTICE GUIDELINES
Laboratory Support for the Diagnosis and Monitoring of Thyroid Disease
(Chinese Version)

主笔 周蒙爱(安娜) Chief Editor ZHOU, Meng-ai (Anna), M.D., Ph.D.
执笔 戴为信 Editors DAI, Weixin, M.D.
杨振华 YANG, Zhenhua, M.D.



美国国家临床生化学院
The National Academy of
Clinical Biochemistry (NACB)

检验医学应用准则 (中文版)
甲状腺疾病诊断与监测的实验室支持
LMPG-Thyroid (Chinese Version)

主笔 Chief Editor 周蒙爱(安娜) (美国) Anna Meng-ai Zhou, M.D., Ph.D. (USA)

执笔 Editors 戴为信 (中国) Weixin Dai, M.D. (China)
杨振华 (中国) Zhenhua Yang, M.D. (China)

美国国家临床化学学院(NACB)正式授权给北美华人临床化学协会(NACCCA)将本文件翻译为中文,供世界各地通晓华语的人使用。中文版保持了原文固有粗斜体和加强线等格式,并加注改正了原文个别文字错误。在北美华人临床化学协会和北美华人临床化学协会翻译委员会的指导和帮助下,本文件翻译编写得以完成。

The National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) authorized the North American Chinese Clinical Chemists Association (NACCCA) to translate this document into Chinese for the worldwide use of those whose native tongue is Chinese. This version has kept the original format, boldface, italic and underlines, and corrected some errors with notes. The translation and editing of this document is accomplished under the guidance and support of the NACCCA and NACCCA Translating Committee.

naccca
北美華人臨床化學協會

North American Chinese
Clinical Chemists Association

北美华人临床化学协会翻译委员会 NACCCA Translating Committee:

主席	吴采采	Chair	Caicai Wu, Ph.D., F.A.C.B, D.A.B.C.C.
代理主席	罗方中	Acting Chair	Stanley Lo, Ph.D., F.A.C.B, D.A.B.C.C.
主笔	周蒙爱(安娜)	Chief Editor	Anna M. Zhou, M.D., Ph.D.
顾问	姚建德	Advisor	Kiang-Teck J. Yeo, Ph.D., F.A.C.B, D.A.B.C.C.

中文版执笔小组衷心感谢以下专家个人的贡献: The Chinese Version Editorial Group cordially acknowledges the following experts and individuals who contributed to the translated version.

原译	赵卫国	Translator	Weiguo Zhao, M.D., D.A.B.C.C.
医学校译	缪其宏	Translator (Medicine)	Qihong Miao, M.D.
专业审阅	白耀	Proofreader (Specialty)	Yao Bai, M.D.
通读审阅	袁桂清	Proofreader	Guiqing Yuan, M.D., M.B.A

中文版翻译委员会对给予以上各位专家的诸多帮助和未列出姓名的医师、专家学者、和个人的支持,在此一并致谢。

The Translation Committee expresses their gratitude and appreciation for the help of the above experts, and those physicians, expert scholars, and individuals that have supported in this task without being listed.



检验医学应用准则

甲状腺疾病实验室诊断与监测的临床应用准则

美国国家临床生化学院(NACB)

目录

中文版首页 /I-II

1 前言 /2-3

2 分析检测前因素 /4-16

3 临床生化家及临床医师的甲状腺试验 /17-98

3.1 总甲状腺素(TT4)和总三碘甲状腺原氨酸(TT3)方法 /17-18

3.2 游离甲状腺素(FT4)及游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)试验 /19-30

3.3 促甲状腺激素(TSH)检测 /31-42

3.4 甲状腺自身抗体 /43-54

- 甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb) /45-47

- 甲状腺球蛋白抗体(TgAb) /48-49

- 促甲状腺激素受体抗体(TRAb) /50-53

3.5 甲状腺球蛋白(Tg)检测 /55-65

3.6 降钙素(CT)与ret原癌基因 /66-73

3.7 尿碘检测 /74-78

3.8 甲状腺细针抽吸(FNA)和细胞学检查 /79-86

3.9 先天性甲减的筛查 /87-94

4 实验室与临床医师交流的重要性 /95-98

5 附录及词汇表 /99-103

6 参考文献 /104-125

执笔

Laurence M. Demers, Ph.D., F.A.C.B.

Carole A. Spencer, Ph.D., F.A.C.B.

准则委员会:

承蒙各位执笔、准则委员会成员、各章执笔专家和多位评审专家在内的各方面专家的专业性投入和通力协作完成了本论著的修订版。各章执笔专家及评审专家名单见附录A。本论著仅代表编写者的观点,不代表美国国家临床生化学院(NACB)及其相关赞助组织的官方立场。美国国家临床生化学院是美国临床化学协会的法定学院。

只要完整地复印此文件包括本通知,就可以从授权的国际互联网诸如NACB主页(www.nacb.org)复印本件供个人使用。只要翻印其标题页和所选部分的扉页,或者清楚地标明所翻印的内容来自NACB,就允许翻印本文件的部分内容供个人使用。否则,未经美国国家临床生化学院(NACB, 2101 L Street, N.W., Washington, DC 20037-1526)书面授权许可,不得全部或者部分复制本文,不得收入检索系统,不可翻译成其他语言,不可通过任何其他形式传播。如果将NACB的机构标志及如下文字:

“Reproduced (translated) with permission of the National Academy of Clinical Biochemistry, Washington, DC”显著地刊登在文件的开头,则通常可以获准该项授权。

可按上述地址或通过主页(<http://www.nacb.org/>)向NACB购买单份或多份影印件。

©2002 版权属于美国国家临床生化学院

特别感谢以下专家, 他们为本论著提供了原稿。本文件是以他们的原稿为基础编写的:

Zubair Baloch, M.D., Ph.D.

University of Philadelphia Medical Center, Philadelphia, PA, USA

Pierre Carayon, M.D., D.Sc.

U555 INSERM and Department of Biochemistry & Molecular Biology, University of the Medeterranea Medical School, Marseille, France

Bernard Conte-Devolx, M.D., Ph.D.

U555 INSERM and Department of Endocrinology,
University of the Medeterranea Medical School, Marseille, France

Ulla Feldt Rasmussen, M.D.

Department of Medicine, National University Hospital, Copenhagen, Denmark

Jean-François Henry M.D.

U555 INSERM and Department of Endocrine Surgery,
University of the Medeterranea Medical School, Marseille, France

Virginia LiVolsi, M.D.

University of Philadelphia Medical Center, Philadelphia, PA, USA

Patricia Niccoli-Sire, M.D.

U555 INSERM and Departments of Endocrinology and Surgery
University of the Medeterranea Medical School, Marseille, France

Rhys John, Ph.D., F.R.C.Path,

University Hospital of Wales, Cardiff, Wales, UK

Jean Ruf, M.D.

U555 INSERM and Department of Biochemistry & Molecular Biology,
University of the Medeterranea Medical School, Marseille, France

Peter PA Smyth, Ph.D.

University College Dublin, Dublin, Ireland

Carole A. Spencer, Ph.D., F.A.C.B.

University of Southern California, Los Angeles, California, USA

Jim R. Stockigt, M.D., F.R.A.C.P., F.R.C.P.A.,

Ewen Downie Metabolic Unit, Alfred Hospital, Melbourne, Victoria, Australia

1. 前言

在临床诊疗中, 临床医师对甲状腺疾病的正确诊断和成本效益管理需要高质量的实验室检查作为支撑。有时, 临床高度怀疑的, 如青年人有明显的甲亢临床表现或伴有甲状腺肿块的迅速增大, 通过甲状腺激素检验即可予以确诊。但多数甲状腺疾病患者的临床症状并不明显, 这时只有通过生化检验或细胞病理学检查才能作出准确判断。但是无论患者的甲状腺体征是否显著, 临床医师与检验师的充分沟通与坦诚合作, 对于甲状腺疾病患者得到满意而又经济有效的处理是必要的措施。

甲状腺功能障碍, 尤其是碘缺乏引起的甲状腺功能减低(简称甲减)属于世界性难题。碘缺乏在一个国家中的分布常不均一。欧洲与美国的研究结果表明, 碘缺乏是一种“地方性疾病”, 即它在一个国家的某些地区普遍存在(1-3)。

这一独特的最新文件的诞生是甲状腺权威组织和许多甲状腺专家共同研究和通力合作的成果。参与这项工作的专家们来自以下甲状腺疾病的专业学会: 美国临床内分泌学家协会(AACE)、亚洲及大洋洲甲状腺学会(AOTA)、美国甲状腺学会(ATA)、英国甲状腺学会(BTA)、欧洲甲状腺学会(ETA)和拉丁美洲甲状腺学会(LATS)。这些学术组织都是全世界各个地区从事甲状腺前沿研究以及颁布甲状腺疾病治疗监护标准的权威机构。由于地区与经济因素在一定程度上影响甲状腺检验的临床应用, 为了使甲状腺检验在成本效益压力日益增加的全球环境下获得最佳的临床效用, 本论著将着重论述甲状腺检验的技术方面和性能标准。世界各地的各位医师和各个实验室在甲状腺激素检验上都有自己不同的策略方案(4)。虽然本文件无法兼容所有这些不同观点, 但是我们希望本文件的读者会赞赏我们的努力, 即综合不同意见推荐一个策略和方案, 我们相信本文件包括了绝大多数在诊治甲状腺疾病中常用的试验和诊断步骤。本文件旨在使实验室学者及临床医师就目前临床上最常用的有关甲状腺检测的特点专长及其局限性有一个全面的了解。除非特别指出, 本文件所作的推荐均为一致意见, 推荐的一致性超过95%。我们始终欢迎建设性意见, 它将改进此文件的未来修订版。

1.1. 其他资源

当前的临床指南发表于下列参考文献(4-11)。此外, 还可以参考教科书《甲状腺》“Thyroid”和《甲状腺及其疾病》“The Thyroid and Its Diseases”(www.thyroidmanager.org) (12,13)。在ATA网站(www.thyroid.org)可查到美国甲状腺协会推荐给Medicare的, 这些可提示甲状腺疾病症状和疾病的编码表 ICD-9。临床应用准则可因国家地域而异。通过以下学术组织可以获得更多的信息: 亚洲及大洋洲甲状腺学会(AOTA = www.dnm.kuhp.kyoto-u.ac.jp/AOTA); 美国甲状腺学会ATA = www.thyroid.org; 欧洲甲状腺学会ETA = www.eurothyroid.com 和拉丁美洲甲状腺学会LATS = www.lats.org。

1.2 历史回顾

在过去的40年中, 由于甲状腺生化检验的灵敏性和特异性的提高, 以及细针抽吸活组织检查(FNA)的发展和细胞学技术的进步, 显著地影响了甲状腺疾病检测和治疗的临床策略与方案。20世纪50年代, 我们只能采用一种血清甲状腺试验, 即采用蛋白结合碘(PBI)技术来间接估计总(游离与蛋白质结合)甲状腺素(T₄)的浓度。如今, 我们通过干或湿灰化技术对尿碘浓度进行直接检测, 可评价饮食中碘的摄入量。70年代初竞争性免疫分析法和近来非竞争性免疫定量测定分析(IMA)方法的发展, 不断改善了甲状腺激素测定的特异性和灵敏度。目前, 血清测定可用于检测血液中总(TT₄和TT₃)和游离(FT₄和FT₃)甲状腺激素的浓度(14,15)。此外, 还可以检测与甲状腺激素结合的血浆蛋白: 甲状腺结合球蛋白(TBG)、甲状腺素运载蛋白(转甲状腺素蛋白)(TTR)/甲状腺结合前白蛋白(TBPA)和白蛋白(16)。现在, 垂体促甲状腺激素(TSH)检测灵敏度的提高使得TSH可用于检出甲亢和甲减。而且, 甲状腺前体蛋白即甲状腺球蛋白(Tg)与血清降钙素(CT)的检测, 已经分别成为处理甲状腺分化癌和甲状腺髓样癌患者的重要肿瘤标志物。自身免疫是甲状腺功能紊乱的主要原因, 这个认识已促使甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(TgAb)和TSH受体抗体(TRAb)等自身抗体的检测向更为灵敏和特异的方向发展。目前通常采用特定抗体的手工操作或自动化法进行血清甲状腺试验(17)。随着性能标准的建立和新技术以及设备的开发, 方法学也正在不断地发展。



2. 分析检测前因素

所幸的是, 绝大多数的分析检测前变量对于血清促甲状腺激素 (TSH) 检测的结果没什么影响, TSH检测是最常用于初步评估门诊甲状腺患者状态的首选检测项目。检测前的变量和样本中存在的干扰因素, 会影响甲状腺激素与血浆蛋白的结合, 降低了总甲状腺激素和游离甲状腺激素检测的准确性, 但对血清TSH影响较少(见表1)。如在[2.2.2和3.2.3.3(viii)]讨论的: 严重的非甲状腺疾病(NTI)住院患者的FT4和TSH两者的测定值会误导诊断。事实上, 甲状腺功能正常的患者常因非甲状腺疾病(NTI)有血清TSH的异常和/或总甲状腺素和游离甲状腺素的异常。这是由NTI引起的, 或是继发于药物治疗干扰了甲状腺激素的分泌或合成。当高度怀疑有上述变量之一影响了检测结果时, 需要经常向临床专科医师和资深检验医师征询指导。

表1. 非相关严重疾病时FT4/TSH不一致的原因

误导试验	结果		可能原因	措施
	TSH	FT4		
FT4	↑	N	1. 未治疗的轻度甲减 2. 经治疗但 L-甲状腺素 (L-T4) 治疗量不足或顺应性差	1. 测量甲状腺过氧化物酶抗体 (TPOAb) 。6周后复查TSH确认 2. 增加L-T4的剂量/查询辅导顺应性
	↓	N 或 ↓	1. 轻度 (亚临床) 甲亢 2. 用含T3的制剂治疗过度	1. 可能是自主功能性甲状腺肿? 2. 检测FT3以排除T3甲亢的可能
	N	↑	1. 一般见于L-T4治疗 2. 异常结合蛋白(如FDH) 3. 抗体干扰(T4抗体、HAMA或类风湿因子)	1. L-T4 治疗甲减, 预期FT4值升高 2. 和3. 使用其它方法核查FT4。理想的是使用物理分离技术, 即平衡透析法或超滤法
	N	↓	1. 与结合蛋白竞争的藥物 [见3.2.3.3 (vi)] 2. 妊娠	1. 最小稀释法检查FT4 2. 用对白蛋白不敏感的方法核查FT4。用方法特定的和妊娠特定的参考值范围
TSH	↑	N	1. 平衡失调(L-T4治疗甲减的第一个6-8周) 2. HAMA 或其它干扰	1. 在调整L-T4剂量前复查TSH。TSH在治疗严重甲减时可持续升高数月 2. 使用其它方法核查TSH (新样本)
	↓	N	1. 平衡失调 (治疗甲亢后的前2-3个月) 2. 药物治疗, 如使用糖皮质激素, 多巴胺	1. 甲亢治疗早期使用 FT4 和 FT3对甲状腺功能状态进行监测。TSH在治疗严重甲亢后需要数月才恢复正常
	N 或 ↑	↑	1. 垂体TSH分泌腺瘤	1. 使用其它方法检测TSH (新样本) 2. TRH兴奋试验或甲状腺激素抑制试验 3. TSH α 亚单位 4. 脑垂体影像学检查
	N	↓	1. 中枢性甲减	1. 免疫活性的TSH生物活性下降 2. 有无垂体功能不全的其它症状? 3. 对TRH反应迟钝(< 2倍)?

除了基本的生理性差异外, 患者的个体差异, 如遗传性甲状腺结合蛋白异常或严重的非甲状腺疾病(NTI)等都可影响甲状腺检验的灵敏性和特异性。一些医源性因素, 如对甲状腺、非甲状腺的药物治疗, 使用糖皮质激素或 β -受体阻断剂; 以及样本的变量, 包括存在对甲状腺激素和甲状腺球蛋白的自身抗体、嗜异性抗体(HAMA)等也会由于试验结果的误读而影响了诊断的准确性。表2列出判读甲状腺检验时, 需要考虑的检测前各种因素。

2.1 生理性差异

从实用目的,某些变量如年龄、性别、种族、季节、月经周期、吸烟、运动、禁食或采血所致血液淤积,对门诊成人甲状腺试验的参考值范围没什么影响(18)。因为这些生理性变量的差别远小于临床实际中不同检测方法之间的差别,可以认为它们是无关紧要的。

表 2.

1. 生理性差异	- TSH/FT4关系 - 年龄 - 妊娠 - 生物学差异
2. 病理学差异	- 甲状腺功能紊乱 - 肝或肾功能不全 - 药物治疗 - 全身疾病
3. 样本相关差异	- 干扰因素

准则1. 对实验室和临床医师: 通用准则

- 报告结果后,实验室应将所有甲状腺检验的血清样本保存(4-8°C)至少1周,必要时让临床医师有时间要求添加检测项目。
- 分化型甲状腺癌患者用于检测血清甲状腺球蛋白(Tg)的样本应保存(-20°C)至少6个月。

2.1.1 血清TSH/FT4的关系

在分析判读甲状腺试验结果时,重要的是要理解血清中FT4和TSH之间的正常关系。无需多说,如检测TSH以判定原发性甲状腺功能紊乱时,其前提是要有完好正常的下丘脑-垂体轴(19)。某些临床症状和药物因素会干扰FT4和TSH的正常关系。如表1所示,对FT4试验的误导远多于对血清TSH试验的误导。

下丘脑-垂体功能正常时,由于甲状腺激素通过负反馈抑制脑垂体分泌TSH,使血清TSH和FT4浓度成对数/线性的反比关系。因此既可通过测定甲状腺主要产物T4(FT4较为合适)来直接评估甲状腺功能,也可因甲状腺激素负反馈调节脑垂体分泌TSH,通过TSH水平来间接评估甲状腺功能。高TSH、低FT4提示甲减,低TSH、高FT4提示甲亢。事实上,随TSH测定的特异性和敏感度的增高,目前认为通过间接测定血清TSH比FT4检测更能敏感地检查出甲状腺功能紊乱(10)。

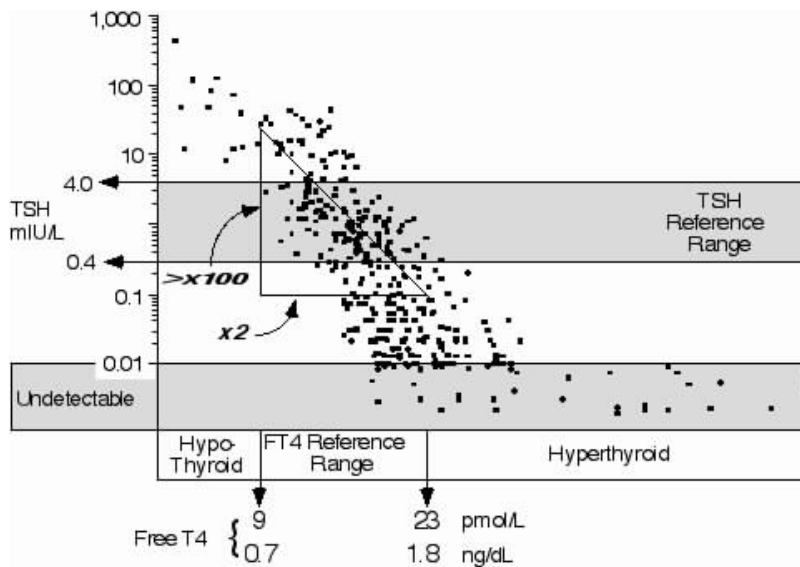


图1. 甲状腺状态稳定和垂体-下丘脑功能正常者血清TSH和FT4浓度的关系。来自参考文献 (20)。

对门诊患者进行以TSH为中心的策略方案有两个原因:

a) 从图1所示: 血清TSH和FT4浓度呈对数/线性的反比关系, 只要血清中FT4有少许的改变, 血清TSH便会相应产生大得多的反应(20)。

b) 狭小的甲状腺激素个体差异和配对研究表明, 每个人都有遗传决定的FT4调定点(21,22)。脑垂体能感知任何轻微的FT4过量或不足, 通过个体的FT4调定点, 引起放大的、反向的TSH分泌反应。因为TSH对FT4在群体参考值范围内的微弱变化呈指数式的放大反应, 而甲状腺功能紊乱发展的早期阶段, 血清TSH值出现异常先于FT4值异常。这是因为群体参考值范围有一定的宽度, 它反映了正常受试群体中每一个体不同的FT4调定点。

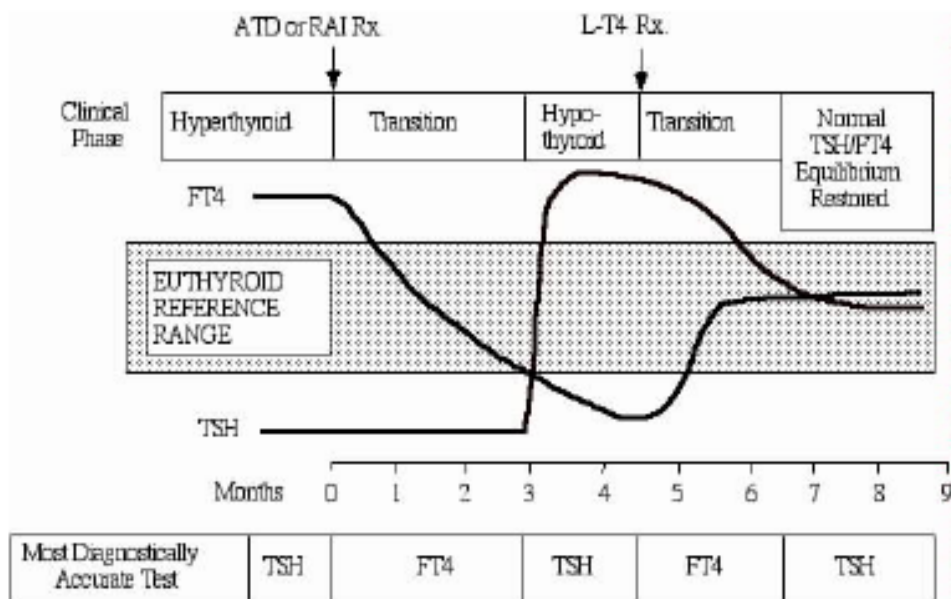


图2. 甲亢或甲减治疗中甲状腺功能不稳定的过渡阶段期间, 垂体重调整TSH会出现滞后现象。

准则2. 门诊患者的甲状腺检验

- **甲状腺功能状态稳定的患者:** 当甲状腺状态稳定且下丘脑-垂体功能正常时, 血清TSH检测比FT4检测更灵敏、更易检测出轻度(亚临床)甲状腺激素过量或不足。血清TSH具有高度的诊断灵敏性, 反映TSH与FT4之间的对数/线性反比关系, 对不同个体遗传的FT4调定点来说, 垂体对FT4浓度异常变化具有超敏的感知能力。
- **甲状腺功能状态不稳定的患者:** 如在治疗甲减或甲亢的最初2-3个月时, 甲状腺功能呈不稳定状态, 在此情况下血清FT4是比TSH更可靠的甲状腺状态监测指标。重度长期甲减患者可发展为垂体促甲状腺细胞过度增生, 它酷似垂体腺瘤, 但在L-T4替代治疗数月后消散。对怀疑L-T4替代治疗无顺应性或间断顺应性的甲减患者, 需要同时监测FT4和TSH。因FT4与TSH持续失衡可使无顺应性的患者出现血清FT4与TSH值不一致(高FT4 / 高TSH)。

通常血清TSH浓度检测是在组织水平上反映甲状腺状态的最可靠的监测指标。对轻度(亚临床)甲状腺激素过量或不足(TSH异常/FT4、FT3正常)的研究发现, 在许多组织(心脏、大脑、骨骼、肝脏和肾脏)中, 甲状腺激素作用的标志物出现异常。当开始治疗使血清TSH恢复正常时, 这些异常一般也逆转恢复正常(23-26)。

重要的是, 要识别出由于血清TSH和FT4误导诊断的临床情况(见表1)。这些包括了下丘脑和脑垂体的功能异常, 如产生TSH的垂体瘤(27-29)。同样, 如图2所示, 在甲状腺功能状态不稳定的过渡阶段, 如甲亢或甲减治疗早期或改变L-T4治疗剂量时, 血清TSH的值容易误导诊断(30)。确切地说, 需要6-12周的时间才能使垂体的TSH分泌达到与新的甲状腺激素水平的再平衡。这些不稳定甲状腺功能状态也可发生在甲状腺炎发作后, 包括产后甲状腺炎, 此时也可有TSH和FT4值的不一致。影响垂体TSH分泌或影响甲状腺激素与血浆蛋白结合的药物, 如多巴胺和糖皮质激素等, 都可引起TSH值的不一致[见3.2.3.3(vi)]。

2.1.2 年龄对于甲状腺激素参考值范围的影响

2.1.2.1 成人

虽然研究表明老年和青年的激素水平有少许差别, 但没有必要依据年龄来校正成年人甲状腺激素和TSH的参考值范围(18,31-33)。就甲状腺功能正常的老年人而言, 不论他们的血清TSH是否高于青年人, 他们TSH的平均值以每10岁递增(18,34,35)。虽然可以看到老年个体间的血清TSH值存在较大的差异, 但还没有理由增大参考值范围或依据年龄来修正参考值范围(31,32)。有报道血清TSH轻度降低或升高与心血管发病率和病死率的增加有关, 从而肯定了这种保守做法(36,37)。

2.1.2.2 新生儿、婴儿及儿童

儿童的下丘脑-垂体-甲状腺轴经历着不断地成熟和调节过程。在母亲妊娠中期到患儿青春期的结束之间存在明确的TSH/FT4比值的持续降低(38-43)。结果是儿童TSH浓度通常相对较高(44)。这一个成熟过程需要采用年龄组特定的参考值范围。然而不同方法的FT4和TSH检测值之间存在显著差别[3.3.2和3.3.3]。因为绝大多数试剂药盒生产商并没有独立地制定年龄特定的参考值范围, 所以当使用不同方法测定时, 可以依据儿童/成人值的比值校正不同方法对成人参考值范围的上、下限, 换算得到年龄特定的参考值限值, 如表3所示。

在妊娠期、新生儿期、老年期以及摄入热卡匮乏时, 大多数方法检测出低下的TT3和FT3水平(15)。此外在甲状腺功能正常的儿童, 常见到较高浓度的TT3和FT3。这提示对于年轻患者(20岁以下)的T3上限应该介于成人的6.7 pmol/L (0.44 ng/dL)到三岁以下儿童的8.3 pmol/L (0.54 ng/dL)之间(45)。

表 3*. 妊娠期和儿童期TSH及FT4相对参考值范围

年龄	TSH比值 (儿童/成人)	TSH范围 mIU/L	FT4比值 (儿童/成人)	FT4范围 pmol/L (ng/dL)
妊娠中期胎儿	2.41	0.7-11	0.2	2-4 (0.15-0.34)
低体重儿脐带血清	4.49	1.3-20	0.8	8-17 (0.64-1.4)
足月儿	4.28	1.3-19	1	10-22 (0.8-1.9)
3 日龄	3.66	1.1-17	2.3	22-49 (1.8-4.1)
10 周龄	2.13	0.6-10	1	9-21 (0.8-1.7)
14 月龄	1.4	0.4-7.0	0.8	8-17 (0.6-1.4)
5 岁	1.2	0.4-6.0	0.9	9-20 (0.8-1.7)
14 岁	0.97	0.4-5.0	0.8	8-17 (0.6-1.4)
成人	1	0.4-4.0	1	9-22 (0.8-1.8)

*数据来自参考文献(42). 直接平衡透析法测定FT4

准则 3. 婴儿和儿童的甲状腺检验

自婴儿期至青春期结束, 下丘脑-垂体-甲状腺轴发育成熟。

- 儿童TSH和FT4值二者的浓度都是较高的, 尤其是在出生后第1周和整个1岁期间。如果了解这一点, 就会导致误诊为先天性甲减和/或治疗不当。
- 所有试验均要使用年龄相关的正常参考值范围 (见表3)。

2.1.2.3 妊娠

妊娠时雌激素的生成持续地提高TBG的平均浓度。妊娠20周时, TBG水平升高到逐渐趋平,为妊娠前水平的2到3倍(46,47)。妊娠16周时, TT4和TT3的参考值范围上移到是非妊娠期水平的大约1.5倍, 即比非妊娠期增加了大约50%(48-50)。这些改变同时也伴有血清TSH在妊娠最初3个月的下降, 大约有20%正常孕妇可见到血清TSH低于正常值(46,47,51)。人绒毛膜促性腺激素(hCG)与脑垂体分泌的TSH具有结构上的同源性。TSH减少正是因为hCG对甲状腺的刺激作用所引起(52,53)。大约在孕后10-12周, 在hCG升高到顶点的同时, TSH也降低到最低点。以上的情况中, 大约有10%的孕妇(注)会有FT4增高并超出正常值。如果时间长会导致名为“妊娠暂时性甲状腺毒症(GTT)”的综合征。此综合征会表现或多或少甲亢的症状或体征(52-54)。这种情况下常常伴有在妊娠最初3个月的妊娠呕吐(55,56)。

执笔注: 指妊娠呕吐的10%的孕妇, 即所有孕妇中的2%

妊娠最初3个月TSH的下降伴有适度的FT4增高(46,47,51)。现在一致认为: 在此后的妊娠中期和晚期, 血清FT4和FT3水平下降到低于正常均值约20%-40%的水平。当母亲碘的营养状态受限或不足时, 游离甲状腺激素减少幅度更大(46,47,51)。某些患者的FT4可能下降到非妊娠患者的参考值下限以下(51,57-60), 即FT4浓度低于正常。在这种情况下, 出现低于正常FT4浓度的频率取决于试验方法(57,59,60)。接受L-T4替代治疗的患者如果怀孕, 可能需要增加治疗剂量以维持正常的血清TSH水平(61,62)。

在妊娠期间每三个月要进行TSH加FT4的检查以监测这些患者的甲状腺功能。为了维持正常的TSH和FT4水平, 需要调整L-T4剂量。正常妊娠期间的血清Tg浓度通常升高^[46]。有残留甲状腺组织的分化型甲状腺癌患者(DTC)血清Tg常增高为原水平2倍, 而在产后6-8周恢复到最初水平。

准则4. 怀孕患者的甲状腺检验

众多证据表明妊娠早期的甲减对胎儿产生有害的影响 (胎儿残疾和智商IQ低下)

- 妊娠前或妊娠最初3个月, 用血清TSH和甲状腺过氧化物酶抗体 (TPOAb) 检验筛查甲状腺功能紊乱, 对查出轻症甲减(TSH>4.0mIU/L)以及评估产后甲状腺炎的危险性(TPOAb升高)二者都很重要。
- 妊娠最初3个月, 如出现血清TSH水平> 4.0 mIU/L, 应考虑进行L-T4治疗。
- 妊娠最初3个月的TPOAb升高是产后甲状腺炎的危险因素。
- 接受L-T4治疗的怀孕患者应该每3个月检测血清TSH来评估甲状腺的状态, 如果调整了L-T4的剂量, 检测应更频繁。
- 当报告怀孕患者的甲状腺检测数值时, 应使用按孕期分组 (早、中、晚期) 的参考值范围。
- 在孕期如果无法进行可靠的FT4检测, 可以检测TT4和TT3, 但要将其参考值范围增大为非妊娠期间的1.5倍。
- 孕期的FT3和FT4的参考值范围因不同方法而异, 每种方法应确立与之对应的FT3、FT4参考值范围。
- 不应对妊娠期DTC患者检测血清Tg。正常妊娠时血清Tg增高并且在产后恢复到原来的水平。在有残留正常甲状腺或肿瘤组织的怀孕的DTC患者, 也有Tg的增高但不需要引起惊慌。

在妊娠早期胎儿甲状腺具有功能前, 母体中可利用的甲状腺激素减少是损害胎儿神经系统发育的危险因素。近来研究报道: 未诊断甲减或FT4水平低下及TPOAb阳性的孕妇, 增加了胎儿死亡和婴儿的智商缺陷(63-65)。一项研究提示: 早期识别和治疗轻度 (亚临床) 甲减有可能防止低甲状腺激素对新生儿精神运动和听觉系统的长期影响(66)。

2.2 病理性差异

2.2.1 药物治疗

药物治疗既能在体内也能在体外对甲状腺试验产生影响。这可能导致对检验结果的误读和做出不恰当的诊断, 增加不必要的重复检测和医疗支出 (67,68)。

2.2.1.1 体内效应

一般而言, 药物治疗对血清TSH的影响比甲状腺激素浓度对TSH的影响小(表1)。例如, 雌激素诱导TBG水平升高会使血清TT4水平相应升高, 但是不影响血清TSH浓度。这是因为脑垂体的TSH分泌是受FT4调控, 并不依赖于结合蛋白的作用。

大剂量糖皮质激素可以降低血清T3水平和抑制TSH分泌(69,70)。多巴胺也可抑制TSH分泌, 甚至会掩盖住原发性甲减患者的TSH升高(71)。有时用心得安(propranolol, 普萘洛尔)治疗甲亢的症状, 它有抑制外周T4向T3转化的作用。因为损伤了T4向T3的转化, 普萘洛尔用于无甲状腺疾病的个体时会造成TSH升高(72)。

使用含碘化物的溶液消毒皮肤、以及作为不透射的造影剂用于冠脉血管造影及CT检查时, 能引起易感个体发生甲亢或甲减(73)。此外, 胺碘酮是含碘的抗心律失常药物, 用于治疗心脏病患者时可对患者的甲状腺功能产生复杂的作用, 对TPOAb阳性的敏感患者可诱导发生甲减或甲亢(74-78)。

准则 5. 胺碘酮药物治疗的患者

在正常甲状腺功能或有甲状腺疾病病史的患者中, 使用胺碘酮治疗后, 有14%-18%会诱导和发展为甲亢和甲减。

- 治疗前--
在进行全面甲状腺体格检查同时, 应检测TSH和TPOAb的基础值。只在TSH异常时, 才需要做FT3和FT4试验。阳性TPOAb是治疗期间发生甲状腺功能紊乱的危险因素。
- 治疗后的前6个月。
开始治疗后的前6个月中, 可能出现异常的试验。TSH可与甲状腺激素水平不一致(高TSH/高T4/低T3)。随着长期治疗, 如果患者甲状腺功能正常, TSH通常会恢复到正常水平。
- 长期随访。每6个月检测一次TSH。血清TSH值是治疗期间最可靠的甲状腺状态的指标。
- 甲减。
有桥本甲状腺炎病史和/或TPOAb阳性属于发生甲减的危险因素。在治疗期间随时都可能发生甲减。
- 甲亢。
低血清TSH提示为甲亢。治疗期间, TT3或FT3常常处于低水平, 但也可以是正常。高T3怀疑为甲亢。
- 治疗期间, 胺碘酮可发生两种类型甲亢, 以混合型较多见 (20%)。通常难以区分这两型甲亢。彩色多普勒回声信号减低和白细胞介素-6(IL-6)升高提示为II型。如病因不明确时, 对两型甲亢都要直接进行治疗。

**

I型=碘诱导性。推荐疗法=如有高氯酸钾, 可与硫酰胺同时应用进行治疗。也有人建议碘番酸治疗后进行甲状腺切除。多数建议停用胺碘酮。多见于缺碘地区。然而在富碘地区, 放射(性)碘摄取率可以是低的, 排除使用放射性碘治疗的可能性。在缺碘地区摄碘率可正常或升高。

• **1a型:** 结节性甲状腺肿, 多见于缺碘地区, 如欧洲。

• **1b型:** Graves病。多见于富碘地区, 如美国。

**

II型= 胺碘酮诱导的破坏性甲状腺炎, 它是一种自限性病症。

推荐疗法= 如心功能状态允许, 采用糖皮质激素和 β -受体阻滞剂治疗。

当出现严重甲亢时, 可考虑碘番酸治疗后手术治疗。

• 放射性碘摄取率常常降低或抑制。II型多见于富碘地区。

• **I型胺碘酮诱发性甲亢(AIH):** 由于含过量碘化合物药物所致的甲状腺异常。

硫脲类和高氯酸钾联合用药常用于治疗这类病例。

• **II型AIH:** II型源于破坏性甲状腺炎。常用泼尼松和硫脲类治疗。一些研究报道

II型有IL-6的升高^[79]。治疗期间血清T3(游离T3和总T3)通常降低。近乎正常T3

或T3升高的反常现象有助于支持AIH的诊断。

锂: 在用锂治疗的患者中, 大约有10%可引起甲减或甲亢, 尤其是TPOAb滴度阳性的患者[81-83]。

某些治疗和诊断性用药 (如苯妥英、卡马西平或呋塞米Furosemide速尿) 可以竞争性地抑制甲状腺激素与样本中血浆蛋白的结合, 使得FT4急剧增高, 从而通过反馈机制导致血清TT4值降低[见3.2.3.3(vi)]。

2.2.1.2 体外效应

肝素静脉给药可以在体外激活脂蛋白脂酶释放游离脂肪酸(FFA)。释放的FFA抑制T4与血清蛋白的结合, 从而使FT4水平假性升高[3.2.3.3(vii)](84)。在某些病理状态, 如尿毒症时, 异常血清成分如吡啶乙酸的积聚可干扰甲状腺激素与蛋白的结合(85)。样本中存在有荧光基团的治疗或诊断用药可干扰使用荧光信号的方法(86)。

2.2.2 非甲状腺疾病(NTI)

严重疾病患者常有甲状腺试验异常, 但一般没有甲状腺本身功能异常(87,88)。这些检验异常可见于危重的急、慢性两类疾病, 其成因是中枢对下丘脑释放激素的抑制失调, 包括促甲状腺激素释放激素(TRH)(89,90)。常用“非甲状腺的疾病”或NTI、“甲状腺功能正常的疾病”和“低T4综合征”这些术语来描述这类患者[91]。如图3所示, 甲状腺试验出现变化的幅度与疾病严重程度和分期有关、与影响方法的技术因素有关, 在某些病例与用药有关。

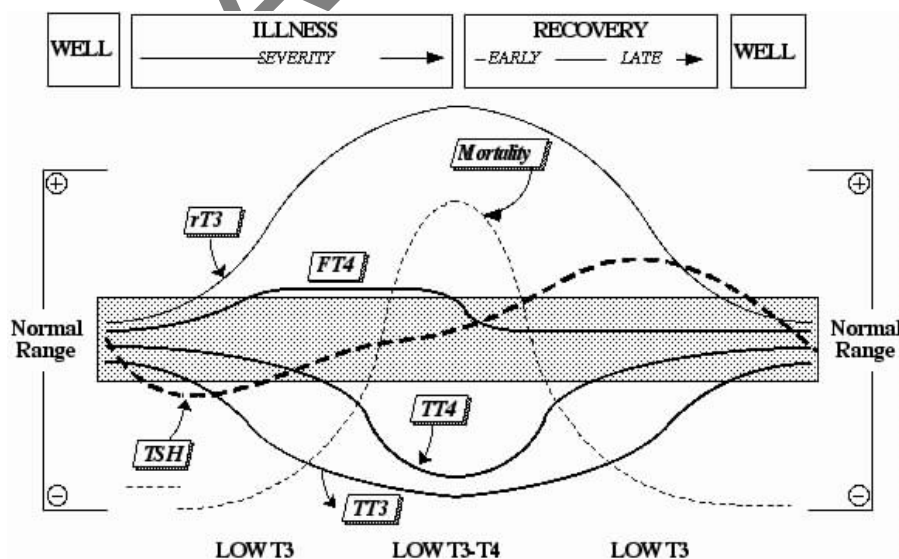


图3. NTI病程中甲状腺试验的变化

大多数方法可检测到绝大部分住院患者的血清TT3和FT3浓度下降(14,97)。随疾病严重程度的增加,血清TT4常随之下降,这可能是因循环中T4结合抑制物破坏了结合蛋白的亲合力(91,98,99)。应该注意的是,轻度异常TT4值仅出现在十分危重的患者(多为脓毒症)。这类患者通常在重症监护病房ICU。如果TT4的降低不伴有血清TSH升高(>20mIU/L)且患者病情不甚严重时,应考虑诊断为继发于脑垂体或下丘脑功能不足的中枢性甲减。

准则 6. 对非甲状腺的疾病(NTI)住院患者的检验

- 急、慢性非甲状腺疾病对甲状腺功能的试验有复杂的影响。如果患者无甲状腺功能异常史或无甲状腺功能障碍相应的临床特征,只要可能,应在疾病消退后再进行诊断性检验,除非患者病史或临床特点提示存在甲状腺异常。
- 临床医师应该认识到,危重患者或多种药物治疗患者的一些甲状腺试验是根本无法解释的。
- 对于未服用多巴胺和糖皮质激素的NTI患者,TSH是较为可靠的检验。
- 解释NTI的FT4或TT4的估值结果应该很慎重,应结合血清TSH的检测一起分析。用T4加TSH两项检测是鉴别原发性甲状腺功能异常(一致的T4/TSH异常)和NTI所致的暂时性异常(不一致的T4/TSH异常)的最可靠方法。
- 因为临床实验室所使用的FT4方法对评价患者缺少诊断特异性,所以在有重症躯体疾病的情况下,FT4检验异常并不可靠。
- 住院患者的异常FT4结果需要用反应的TT4辅助检测来确认。如果TT4和FT4都异常(同一方向),可以判定有甲状腺病症。如果TT4和FT4的异常不一致,FT4的异常更像是由于疾病、药物及试验伪差因素造成的,而不像是源于甲状腺的功能异常。
- TT4异常时需要考虑疾病的严重程度。因为NTI出现低TT4,往往只见于有高死亡率的危重患者。非监护患者出现低TT4则应怀疑甲减。
- TT3和FT3的增高是诊断住院患者甲亢的有利指标,但是T3正常或降低不能用于排除甲亢。
- 反T3试验在医院中很少有帮助,因为肾功能受损或是结合蛋白浓度降低都会使反T3的值表现为反常的正常或降低。而且大多数实验室还未开展此类检验。

FT4和FT3估值的偏差取决于所用的检测方法,根据检验方法的原理,估计值或是虚假的升高或是虚假的降低。例如,如果检测方法对下述因素敏感,静脉输注肝素后体外生成的游离脂肪酸[见3.2.3.3(vii)]或是稀释引起的假象,FT4检验就不可靠(84,94,97,98,100,101)。FT4方法如平衡透析法和超滤法将游离激素与蛋白结合激素用物理方法分开,在危重患者往往得出正常或升高的值[见2.2.2和见3.2.3(viii)](94,102)。这些增高值常常是静脉注射肝素的作用(101)。

未接受多巴胺和糖皮质激素治疗的大多数NTI患者,其血清TSH浓度维持在正常范围内(87,93)。但是在急性NTI时,却可能出现血清TSH暂时、轻度下降到0.02-0.3mIU/L范围,在恢复期,TSH又会反弹,轻度升高(103)。在住院患者,非常重要是要使用功能灵敏度为<0.02mIU/L的TSH方法。达不到这个灵敏度,就不可能将血清TSH值很低(<0.02mIU/L)患其他疾病的甲亢患者与NTI引起的暂时性轻度TSH抑制(0.02-0.3mIU/L)可靠地区分开。住院情况下,TSH轻度升高不能诊断为甲减。患其他疾病的甲减患者典型的表现为低T4伴高TSH(>20mIU/L)(92)。

很显然,目前对于严重NTI的甲状腺功能异常的诊断和治疗并不简单,所以最好在内分泌专家帮助下进行诊断和治疗。目前在NTI的低TT4状态时所进行的经验治疗并未改善患者预后,仍认为是实验性的治疗(104-106)。只要将TT4值与疾病的严重性联系起来解释,血清TT4检测比现行的FT4免疫测定方法对诊断更有帮助。FT4免疫方法对评估患者疾病严重程度的诊断准确性变化较大。例如,NTI出现低T4状态主要见于ICU监护的危重患者(71)。无严重疾病的住院患者出现低TT4值,应考虑是甲减。虽然TSH检测对有躯体疾病患者的诊断特异性有所降低,但如果能证明下丘脑-垂体功能完好以及患者未服用影响垂体分泌TSH的功能的药物,使用功能灵敏度<0.02mIU/L的方法,TSH在0.02-20mIU/L时,通常可以排除临床明显的甲状腺功能异常。一般而言,只要可能,最好避免对住院患者进行常规甲状腺检验。

2.3 样本差异

2.3.1 稳定性

少数研究检查了血液样本贮存对血中总、游离甲状腺激素、TSH和Tg的影响(107), 这些研究表明, 一般情况下甲状腺激素不论贮存在室温、还是冰箱或低温冷冻时都是比较稳定的。一些研究报告血清中T4在-4℃可稳定数月, 在-10℃可稳定数年(108,109)。用于筛查新生儿甲减的干燥全血斑中的TSH和TT4, 在有干燥剂的保存下可稳定数月。有报道称血清中TSH比T4略为稳定(110)。值得注意的是, 如上所述, 未经低温冷冻的来自注射过肝素患者的血液样本会在体外产生FFA, FFA会使一些方法检测的FT4值出现虚假的升高(84)。

2.3.2 血清成分

一般而言, 溶血、脂血、血胆红素过多都不会对免疫分析产生明显干扰。但是FFA可以从血清结合蛋白中取代T4, 这可以部分解释NTI时常会见到低TT4(100)。

2.3.3 嗜异性抗体(HAMA)

患者血清中可发现HAMA。HAMA分为两类(111)。一类是弱的多特异性、多反应性抗体, 常为IgM类风湿因子, 也可由感染或单克隆抗体治疗所导致的广泛反应抗体(112-114)。有时称之为抗鼠抗体(HAMA)。另一类可能是特异的人抗动物免疫球蛋白(HAAA), 它们是暴露于含动物抗原(如鼠抗体)的治疗剂后针对确定的特异抗原而产生的, 或是通过工作场所的暴露(如动物管理者)同时产生免疫的(115)。由于在捕获和信号抗体之间形成桥梁, 因而产生错误信号引起不准确的高值, 无论是HAMA或是HAAA都对免疫测定IMA方法有影响(116,117)。不准确结果的值不一定是异常的, 也可以是不合理的升高。目前, 制造商采用不同的方法来处理HAMA, 包括使用嵌合抗体和阻断剂来消除HAMA对方法的影响, 获得不同程度的成功(118)。

2.3.4 样本的采集和处理

大多数制造商推荐的首选检测样本为血清, 而不是EDTA或肝素化的血浆。为要得到理想的结果和尽可能多的血清量, 建议在离心分离前, 要将全血样本至少放置30min让其凝固。血清可在4-8℃贮存1周, 如果标本检测延迟超过1周, 建议贮存在-20℃。用促凝胶试管采集血清不影响大多数TSH和甲状腺激素检测的结果。

准则 7. 对不一致的甲状腺试验结果的调查

技术性干扰或罕见临床病症会导致不一致的甲状腺试验结果:

- **技术性干扰:** 使用不同制造商的方法检测样本常会查出技术性的干扰, 因为多数干扰的大小取决于检测的方法。另一方面, 稀释样本引起的非线性结果可说明TT4、TT3或TSH检测有技术性干扰。注意: 将“正常”血清稀释100倍, 理论上不会造成FT4浓度明显降低(<2%)。但不推荐临床实验室在FT4和FT3检测时进行稀释, 因为这些试验与结合蛋白有关, 稀释反应不呈线性。
- **罕见临床病症:** 在一些罕见却又十分明显病症时, 如中枢性甲减、TSH分泌性垂体瘤、甲状腺激素抵抗症、或者有嗜异性抗体(HAMA)或甲状腺激素(T4和/或T3)自身抗体, 可出现意料之外的异常或不一致的甲状腺试验结果。

2.3.5 甲状腺试验的性能标准

2.3.5.1 生物学差异

血清甲状腺激素和其前体蛋白(甲状腺球蛋白, Tg)的水平在个体内1至4年相当稳定(表4)(22,119)。所有甲状腺分析物显示个体间差异要比个体内差异大(表4)(33,119,120)。个体内血清T4浓度的稳定反映了甲状腺素半衰期长(7日)和遗传FT4的调定点(21)。个体内T3浓度的稳定性反映了体内T4向T3转化的自身调节(121)。血清Tg浓度的个体间差异特别大,因为个体的甲状腺质量、TSH状态以及甲状腺的损伤(如甲状腺炎)都有所不同--所有这些情况都会影响到血清Tg浓度(122)。个体内和个体间血清TSH浓度同样也存在较大的差异(22)。这主要反映了TSH半衰期短(~60min)和昼夜节律性变化,峰值在夜间,并于10:00-16:00之间达到最低点(123,124)。TSH24h昼夜变化的幅度是最大值/最小值约为2倍(123,124)。但由于这一变化的量值在整个人群的TSH正常参考值范围内(大约0.4至4.0mIU/L),所以仍使用单次的TSH值来诊断甲状腺的功能异常。此外,通常门诊患者在白天检测TSH,此时TSH变化幅度最小。

可以从生物学和分析检测二个方面对实验室的性能进行评价。表4列举了不同甲状腺血清分析物的生物学变化,表示为不同时段的不同个体间变异和个体内变异(22,33,119,120,125)。实验室通常用以下参数评定分析性能,比如:

- 1) 评价不同浓度分析物的批内和批间精密度。
- 2) 最小检出限值(分析灵敏度)(126,127)。
- 3) 功能灵敏度(以%CV来表示,与特定分析物的生物学和方法学差异有关)。
- 4) 通过可报告范围值的线性检测。
- 5) 分析物加入到标准基质中的回收率。
- 6) 非疾病群体的正常参考值范围(均值 $\pm$ 2标准差)。
- 7) 与参考方法的相关性。

虽然分析性能参数是绝大多数实验室质量控制和质量评价的基础,但广泛接受的分析性能的目标应该是建立在生物学原理(个体内和个体间变异)以及临床要求上(33)。建议理想的总分析误差应该小于个体内生物学变异系数(%CV)的一半(33,125,128-130)。

表 4. 血清甲状腺检测的个体内和个体间变异

血清分析物	时间间隔	%CV*	%CV**
TT4 /FT4	1 周	3.5	10.8
	6 周	5.3	13.0
	1 年	9.2	17.1
TT3 /FT3	1 周	8.7	18.0
	6 周	5.6	14.8
	1 年	12.0	16.8
促甲状腺激素 (TSH)	1 周	19.3	19.7
	6 周	20.6	53.3
	1 年	22.4	37.8
甲状腺球蛋白 (Tg)	1 周	4.4	12.6
	6 周	8.7	66.6
	4 月	14.0	35.0
		*个体内差异	**个体间差异

数据来源自参考文献(22,33,119,120,125)。

对于诊断性检验, 报告甲状腺试验结果应同时报告反映出个体间差异的“正常”参考值范围。这一参考值范围为病例的检出提供了一个基准。但是参考值范围不能用在监护患者治疗期间, 判别前后两次检测结果间的差异有无临床意义的变化, 它仅仅反映了检测在技术(批间不精密度)和生物学上(个体内差异)的变化(131)。在术后临床处理期间, 使用肿瘤标志物如Tg时, 与“正常”参考值范围通常无关(132)。很清楚, 与采用一系列检测对患者进行监测相比较而言, 用检测进行诊断时, 方法的偏倚和精密度就没有必要过于严格。在典型试验报告中的“正常”参考值范围有助于临床医师进行初步诊断, 但没有提供有关信息帮助临床医师对治疗后变化的意义进行评估。

表 5. 甲状腺检测的偏倚和精确度目标

试验	TT4	FT4	TT3	FT3	TSH	Tg
	nmol/L(μg/dL)	pmol/L(ng/dL)	nmol/L(ng/dL)	pmol/L(ng/L)	mIU/L	μg/L(ng/mL)
正常参考值范	58-160/4.5-12.6	9-23/0.7-1.8	1.2-2.7/80-180	3.5-7.7/23-50	0.4-4.0	3.0-40.0
个体内%CV	6.0	9.5	5.6	7.9	19.7	8.7
个体间 %CV	12.1	12.1	14.8	22.5	27.2	66.6
W	3.5	3.8	4.0	6.0	14.3	16.8
X	1.3	2.4	1.4	2.0	5.2	2.2
Y	7.0	7.7	7.9	11.9	28.6	33.6
Z	2.7	4.8	2.8	4.0	10.3	4.4

W= 对诊断检验所建议的最大偏倚目标的百分数

X= 对个体监测所建议的最大偏倚目标的百分数

Y= 对诊断检验所建议的最大不精密度目标的百分数

Z= 对个体监测所建议的最大不精密度目标的百分数

表5表示了用于诊断和监测的主要甲状腺试验的偏倚和精密度的目标。表中所用的数值均通过对多项研究得到的个体间和个体内精密度估算而计算得出, 并基于专业领域内已经确立的原则(22,33,119,120,130,133,134)。

表5和准则8列出了在每项试验中, 表示有临床显著性意义的一系列连续检测结果(在分析物的正常均值左右)的变化量值(22,120)。这些基准有助于临床医师来估计, 在治疗甲状腺疾病患者时, 连续监测过程中有临床意义的变化。

准则 8. 如何正确解读甲状腺检验结果

- 诊断性检验 (查出病例) 的甲状腺试验结果应同时报告反映个体间变异的“正常”参考值范围。
- “正常”参考值范围不表明构成临床上有显著变化的试验结果之间差别的大小。

监测患者对治疗反应时, 根据分析变异以及个体间和个体内生物学变异得出的有临床意义的甲状腺试验值的差别为:

TT4 =	28 (2.2) nmol/L (μ g/dL)
FT4 =	6 (0.5) pmol/L (ng/ dL)
TT3 =	0.55 (35) nmol/L (ng/ dL)
FT3 =	1.5 (0.1) pmol/L (ng/ dL)
TSH =	1.5 (0.1) pmol/L (ng/ dL)
Tg =	1.5 μ g/L (ng/mL)

3. 临床生物化学家及临床医师的甲状腺试验

3.1 总甲状腺素 (TT4) 和总三碘甲腺原氨酸 (TT3) 方法

甲状腺素 (T4) 是甲状腺腺体分泌的主要激素。循环中所有甲状腺素都来源于甲状腺的分泌。而体循环中只有20%的三碘甲腺原氨酸(T3)来自甲状腺组织。血液中多数T3是T4在非甲状腺组织中在5'脱碘酶的催化下5'位单脱碘而形成T3(121)。事实上, T4是生物活性较高的甲状腺激素T3的前体。循环中大多数 (~99.98%) T4与特定的血浆蛋白相结合, 如甲状腺素结合球蛋白 (TBG) (60-75%), 甲状腺结合前白蛋白/甲状腺素运载蛋白 (TTR/TBPA) (15-30%), 以及白蛋白 (~10%) (12,16)。血循环中大约99.7%的T3与血浆蛋白结合, 尤其是与TBG结合。这表明T3的蛋白结合力仅为T4的1/10(12)。与蛋白结合的甲状腺激素不进入细胞, 因此没有生物学活性, 其功能是循环中甲状腺激素的储存库。相比, 微量的游离甲状腺素通过特异的膜转运机制进入细胞产生生物学效应。游离T4进入垂体前叶促甲状腺细胞, 并在进入细胞内生成T3, 通过T3参与对垂体TSH分泌的负反馈调节。

从技术上来说, 开发测定总 (游离+蛋白结合) 甲状腺激素浓度的方法, 要比估测极少量的游离甲状腺激素浓度的检验容易得多。这是因为总激素 (TT4和TT3) 是在纳摩尔 (毫微mol, nmol, 10^{-9} mol) 水平进行检测, 而游离激素 (FT4和FT3) 是在皮摩尔 (微微mol, pmol, 10^{-12} mol) 水平进行检测, 还必须排除更高浓度总激素的干扰。

3.1.1 检测总甲状腺激素的方法

在过去的40年里, 血清TT4和TT3检测方法经历了多种技术渐进发展。20世纪50年代用于估测TT4的“血清蛋白结合碘”(PBI)试验, 在60年代首先被竞争性蛋白结合方法所取代, 之后在70年代又被放射免疫方法 (RIA) 所代替。当今使用竞争性免疫方法检测血清TT4和TT3的浓度, 这些方法大多是非放射性的, 它们使用酶、荧光分子和化学发光分子作为信号(135)。总激素的测定必须使用抑制剂(置换物或阻断物), 如8-苯胺-1-萘磺酸 (ANS) 或水杨酸, 把激素从结合蛋白中释放出来(136)。现代的试验使用这些抑制剂和大容量样本的稀释, 将结合的激素从结合蛋白中置换出来, 激素与抗体试剂的结合。由于血液中TT3浓度只是TT4的1/10, 虽然使用大容积的样本, 对技术的灵敏度和精确度两者的要求仍是很高的(137)。虽然测到可靠的高浓度TT3对诊断甲亢是关键的, 但是在正常范围内可靠的TT3测定对调整抗甲状腺药物剂量和查出患者是否患有甲亢也是十分重要的, 他们的血清T3可以显示反常的正常, 仍可能提示患有甲亢。

尽管可以获得高纯度的结晶L-甲状腺素和L-三碘甲腺原氨酸制品 (参见美国药典, 16201 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852), 但还没有建立TT4或TT3的参照方法(138,139)。此外, 结晶制剂吸水的特性也影响其重量称重的准确性(140)。其次, 需用稀释剂来稀释L-T4和L-T3标准品组成校准物, 这类稀释剂或是修饰的蛋白基质, 或是用多种方法除去激素的人血清库 (多人混合血清基质)。不管在任何一种情况下, 校准品基质的蛋白成分不等于患者的血清。这可导致蛋白结合抑制剂的试剂 (如ANS) 从校准品的蛋白基质中释放激素的量与患者样本中TBG释放的激素量不等。当血清结合蛋白异常时, 如NTI, 会影响到检测的诊断准确性。

准则9. 对制造商: 如何开发TT4和TT3方法。

减少方法的偏倚可以通过以下途径:

- 开发L-T4和L-T3的参照制品以及建立国际参照方法。
- 确保仪器对人类血清和校准物基质之间的差异不敏感。
- 确保在检测过程中, 从血清结合蛋白中释放出的甲状腺激素, 与校准品稀释液存在时释放出的量相同。

3.1.2 总激素测定的诊断准确性

如果所有的患者有相同水平的结合蛋白 (TBG, TTR/TBRA和白蛋白) 和相似的甲状腺激素亲和力, 则总甲状腺激素的诊断准确性会和游离甲状腺激素相等。然而, 血清TT4和TT3的异常浓度更多是由于结合蛋白的异常, 而不是由于甲状腺功能紊乱。在临床实践中经常可见到继发性于妊娠或雌激素治疗, 以及遗传性异常结合蛋白患者的血清TBG异常(141)。异常TBG浓度和/或异常甲状腺激素亲和力, 会破坏总激素和游离激素测定之间的关系(142)。此外, 某些患者的血清中含有其它异常的结合蛋白, 如甲状腺素自身抗体, 这使得总激素测定在诊断上不可靠(143-145)。这些结合蛋白的异常使TT4和TT3检测不能成为独立的甲状腺检验。取代的是, 血清TT4和TT3检测成为二个试验组合的一部分, 此组合还包括对结合蛋白状态的评估, 直接通过TBG免疫方法或者通过“摄取率”试验(见3.2.2.2)。使用总激素浓度和“摄取率”试验结果之间的数学关系作为游离激素的“指数”(146)。30年来一直使用游离激素指数 (FT4I和FT3I) 作为对游离激素的评估检验, 但正在迅速被单一测定游离激素的免疫测定法取代(见3.2.3)。

3.1.3 血清TT4和TT3的正常参考值范围

试验方法不同, 血清TT4值会有所差异。典型参考值范围大约为58-160nmol/L (4.5-12.6 $\mu\text{g/dL}$)。同样血清TT3值也随方法而不同, 参考范围大概在1.2-2.7 nmol/L (80-180 $\mu\text{g/dL}$)。

准则10. 血清TT4和TT3测定

血清TT4和TT3浓度异常更多是由于结合蛋白的异常, 而不是甲状腺功能紊乱。

- 当TBG浓度异常时, 应选用FT4估值检验而非TT4测定。但是当TBG亲和力改变或出现异常的T4结合蛋白时, FT4检测在诊断上可能也不准确。
- 总激素检测 (TT4和TT3) 仍应备用, 以评估不一致的游离激素检验。

3.2 游离甲状腺素 (FT4) 和游离三碘甲腺原氨酸 (FT3) 试验

血液中甲状腺素与血浆蛋白的结合比T3更紧密, 因此FT4的生物可利用部分比FT3少 (FT4与FT3分别为0.02%和0.2%)。然而, 用物理技术把极少量的游离激素组分与蛋白质结合的主要部分分离开, 对于常规临床实验室来说, 不仅在技术上要求较高, 使用也不方便, 费用相对昂贵。通常只有参考实验室才能做这些将游离激素和结合激素分离开的物理分离方法, (如平衡透析法, 超滤法和凝胶过滤法)。常规临床实验室通常使用的各种游离激素试验, 是在蛋白结合激素存在时, 估测游离激素水平。这些游离激素估值试验或者使用两个试验方法来计算游离激素“指数”(见3.2.2), 或者使用各种配体测定方法(14,145,147)。尽管制造商声称FT4和FT3估值试验与结合蛋白无关, 事实上, 大多数(虽非所有) FT3和FT4估值试验都在一定程度上和结合蛋白有关(148,149)。这种与结合蛋白相关的特性, 负面地影响着游离激素方法的诊断准确性, 这些方法常受到许多干扰, 造成错误解释或者不恰当的异常结果(表1)。这些干扰包括对异常结合蛋白的敏感, 各种药物的体内或体外作用[见3.2.3.3(vi)], 以及在某些病理状态下存在的高FFA水平, 和内源性或外源性的影响激素与蛋白结合的抑制剂(60)。

3.2.1 FT4和FT3估值方法的命名

游离甲状腺激素试验的命名十分混乱。一直对测试自身技术的有效性, 以及游离甲状腺激素试验在结合蛋白异常情况下的临床有效性存在着争论(145,147,148,150,151)。临床实验室用来测定游离激素的方法, 或者使用需要二个不同试验的指数方法、或者配体分析方法、或是物理分离方法, 后者将游离激素与蛋白结合激素中分离开后, 直接检测在游离组分中的激素。配体分析方法已经标准化, 或是用称重法来设定激素的浓度, 或是使用物理分离法(也就是平衡透析法和/或超滤法)来计算赋值的校准品。物理分离法通常是手工操作, 对临床实验室来说, 既有技术要求, 且非常昂贵。临床实验室最常使用指数和配体分析方法, 通常在自动免疫分析平台上进行操作(17)。

准则11. 游离激素试验的命名

- 多数临床实验室采用游离激素方法(指数和免疫分析方法), 不采用与结合激素分离出游离激素的物理方法, 也不直接测定游离激素的浓度! 这些试验通常在一定程度上与结合蛋白有关, 所以更适合叫做“游离激素估值”试验, 简称为FT4E和FT3E。
- 总的来说, 结合蛋白浓度高时, 估值试验过高估值FT4的水平; 结合蛋白浓度低时, 低估FT4值。

遗憾的是, 为了区分不同的游离激素方法, 使用了过多令人混淆的术语, 文献中充满了前后不一致的试验命名。目前, 由于制造商改变了最初的制造技术, 或者使之适用于自动化, 不同的术语之间已经没有明显的方法上的区别, 例如“T7”、“有效甲状腺素比值”、“一步法”、“类似物”、“二步法”、“回滴定”、“序列”、“免疫提取”或“免疫整合”、“配体分析”(147)。20世纪70年代开发了一步法的“类似物”试验, 但“类似物”的概念模糊不清(147)。第一代激素类似物试验是非常依赖结合蛋白的, 之后被新一代的标记抗体“类似物”试验所替代, 新方法对异常结合蛋白有更多的抵抗力(147,152)。但制造商很少透露自动方法中所有的试剂组成或操作步骤, 所以在评估有结合蛋白异常的患者时, 不能用这些方法的命名(二步法、类似物法等)来预言诊断的准确性(152)。

3.2.2 指数方法: FT4I和T3I

指数方法是需要两个不同检测的游离激素估值试验(146)。一个检测是测定总激素 (TT4或TT3), 另一个是估计甲状腺结合蛋白浓度, 或是使用免疫分析方法测定TBG, 或是使用称为甲状腺激素结合比值 (THBR), 即T4或T3“摄取”试验。另外一种指数法也可从TT4测定值和同位素透析对游离T4组分的估计值而计算出来。在此情况, 所使用示踪剂的质量和纯度对指数法的准确性有关键的影响(149,153,154)。

3.2.2.1 使用TBG检测的指数法

只有因异常浓度TBG得出异常TT4时, 用TBG计算出来的FT4I会比TT4更能改善诊断准确性。此外, TT4/TBG指数方法不是完全与TBG无关, 所以既不能纠正非TBG相关的异常结合蛋白问题, 也不能纠正亲和力异常的TBG分子(141,155-158)引起的误差。因此, 尽管在理论上使用直接TBG检测有优势, 但很少使用TT4/TBG指数方法, 因为TBG结合能力不依TBG蛋白浓度变化而变化, 尤其是非甲状腺疾病 (NTI) 患者(99)。此外, TBG结合只反映了60%-75%的结合容量, TBG计算出来的FT4I只考虑与TBG结合, 而不考虑激素与甲状腺素运载蛋白和白蛋白的结合。

3.2.2.2 使用甲状腺激素结合比值 (THBR) 或“摄取”试验的指数法

20世纪50年代开始, 使用“摄取”试验来评估甲状腺激素的蛋白结合。有两种不同的“摄取试验”。“经典”摄取试验在样本中加入痕量的放射性标记T3或T4作为示踪剂, 使标记激素像内源性激素与甲状腺结合蛋白结合并分布于体内一样(146,154)。因为只使用了痕量的标记T3或T4, 最初的平衡几乎未被干扰。示踪剂的分布依赖于结合蛋白的饱和状态。加上二次结合剂或吸附剂(阴离子交换树脂、滑石粉、聚氨酯海绵体、活性炭, 或抗体包被小珠等)重新分布标记的T3和T4, 达到一个包含有结合剂在内的新的平衡。吸附剂摄取放射性T3或T4的量取决于结合蛋白的饱和状态: 蛋白结合饱和状态越高, 吸附剂中示踪剂越多。吸附剂摄取加入示踪剂的量可以间接测定TBG。当TBG浓度很低时, TBG与T4结合呈高度饱和, 所以少量加入的标记T3与TBG结合, 更多的将会被吸附剂摄取。相反当TBG浓度很高时, TBG结合T4很低, 更多的示踪剂与空位的TBG结合点结合, 而很少与吸附剂结合。遗憾的是, THBR与TBG浓度呈非线性关系, 所以指数法不能纠正由于严重异常TBG浓度产生的异常TT4 (158)。

推荐使用正常血清样品的标准品来标化方法的反应, 可以用患者结果与正常的结果比值来报告, 即“甲状腺激素结合比值(THBR)”。“经典”摄取方法使用T3示踪剂, 因为T3-TBG的结合亲和力比T4-TBG的要低, 可使吸附剂摄取放射性同位素更多, 缩短计数平衡时间。但是由于用T3摄取试验纠正TT4值是否有效值得怀疑, 现在一些非放射性同位素方法用的是“T4摄取法”。许多制造商仍然使用“经典”方法生产T3摄取法, 它们的正常平均摄取百分率在25%-40%不等(结合计数/总计数)。习惯上, 游离甲状腺素指数, 有时称为“T7”, 来自于T3摄取试验和TT4测定(注), 经常表示为%摄取率(吸附剂结合的计数/总计数)。

执笔注: 如上文指出, 用T3摄取试验纠正TT4值是否有效值得怀疑。

准则12. 甲状腺激素结合比值 (THBR) 或“摄取”试验

- 应将“摄取率”试验称为“甲状腺激素结合比值”试验, 简称为THBR, 而且应指明使用了何种激素, 比如THBR (T4) 或THBR (T3)。
- 用THBR测定可更好地反映T4结合蛋白的异常, 用T4作为示踪剂比T3好。
- THBR值应该按相对于正常血清的比值报告, 后者的设定值为1.00。
- THBR的计算应该是基于吸附剂计数/(总计数—吸附剂计数)的比值, 而不是吸附剂计数/总计数的比值。
- 报告THBR的同时也应该报告总激素值和游离激素指数值。
- 不应该将THBR作为测定甲状腺状态的独立试验, 应该结合TT4和/或TT3检测进行解释, 并用来计算出游离激素的估值 (FT4或FT3指数)。

“经典”T3摄取率或THBR试验常常受样本的内源性T4浓度的影响。可以通过用超出量很大的无放射性标记T4示踪剂来解决这个问题, 因为它的亲和力与T4相似。当TBG异常轻微 (如妊娠) 时, 现行的THBR试验常得出正常的FT4I和FT3I值。但是当患者有严重异常结合蛋白(先天性高或低TBG血症、家族性异常白蛋白高甲状腺素血症 (FDH)、甲状腺激素自身抗体和NTI)、以及一些影响甲状腺素蛋白结合的药物时, 这些试验中的一些可能会得到不恰当的异常指数值。[见3.2.3.3(vi)]。

3.2.2.3 测定游离激素组分的指数法

20世纪60年代第一个游离激素试验是指数法, 它是将透析液的游离激素的组分乘以TT4测定值 (早期是PBI法, 后来是RIA法) 而计算出来(159,160)。游离组分指数法后来发展为测定同位素标记激素透过分隔两室薄膜的转移率, 此二室都含有相同未稀释的样本。用放射性游离组分来计算游离激素指数不是完全与TBG浓度无关, 此外还受放射化学物质的纯度、缓冲液基质和稀释因素的干扰(161,162)。

3.2.3 测定FT4和FT3估值的配体试验

使用这些方法, 或是“二步法”, 或是“一步法”。二步法具体是先用物理方法将激素从结合蛋白上分离开, 或者用一定比例的配体将游离激素分离开, 然后再用灵敏的免疫测定法检测游离激素。相反, 一步配体分析法是在结合蛋白存在的情况下定量分析游离激素。二步法不易受非特异性人为因素的影响。当样品和标准品对测定示踪剂的亲和力不同时, 一步法可能无用(60,145,150)。

3.2.3.1 用物理分离法进行配体分析

FT4法是在用灵敏的免疫方法测定游离激素浓度之前, 用物理方法将游离激素从蛋白结合激素中分离开。这种FT4法可使用含称重T4标准制品的溶液进行标准化。将游离激素和蛋白结合激素中分开的物理方法或者使用有透析室的半透膜, 即一种超滤技术;或者是使用Sephadex LH-20 (羟丙酰基交联葡聚糖凝胶)树脂吸附柱来完成(161-165)。与nmol (纳摩尔) 水平的总激素检测相比, 透析液中pmol(皮摩尔)浓度的FT4或游离组分分离物更需要使用非常灵敏的T4RIA方法。

虽然现在还没有正式公认的游离激素方法的“金标准”，但是一般都认为物理分离方法受结合蛋白干扰最少，照理所测得的游离激素值最能反映循环中游激素水平(94,166)。但是，当样本中存在结合抑制剂或膜材料吸附T4时可能成问题，使用稀释步骤的透析方法可使测到的FT4值偏低(94,166)。相反，这种方法在肝素治疗的患者血清中测到的FT4值偏高，这是由于肝素导致体外产生FFA所致[见3.2.3(vii)](84,97,98,100,167-170)。在NTI患者中，这种体外肝素的影响是人为造成FT4值过高的主要原因(101)。物理分离法对临床实验室的常规应用来说，既费力又不经济，只在一些参考实验室进行。物理分离的FT3方法也仅在一些特定的研究实验室进行(102)。

3.2.3.2 非物理分离的配体分析方法

现在多数游离激素的免疫分析方法，使用特异的、高亲和力的激素抗体从样本中提取少量的总激素。抗体中未被占据的抗体结合点一般与游离激素浓度成反比，可以使用标记了放射性、荧光或化学发光的激素来进行定量分析。然后使用有游离激素赋值的校准品将输出信号转换为游离激素浓度，校准品的赋值则是通过物理分离法获得。实际提取总甲状腺激素的比例根据设计方法而异，但都远远超过了真正游离激素的浓度，且应不足1%-2%，尽可能不干扰解离平衡。分析中的抗甲状腺激素抗体试剂主动地结合激素，源源不断地从结合蛋白上分离下激素，干扰解离平衡。这些方法有效性的关键点由两部分组成，首先，需要创造条件维持游离型和蛋白结合型激素的平衡，即使稀释能减少样本中内源性抑制剂的影响，还是尽可能地减少稀释效应。其次，重要的是使用已知游离激素浓度的血清校准品，校准品在分析中的行为表现应与患者样本一样。有3种通用的方法可用于开发FT4和FT3免疫分析方法：(i) 二步法标记激素；(ii) 一步法标记类似物；(iii) 标记抗体。

准则13. 制造商开发游离激素估值试验

- 不使用将结合激素和游离激素物理分离的方法，从结合蛋白提取的总激素不应该超过1%-2%，这样才能尽可能维持热力学平衡。
- 尽可能地减少稀释效应。虽然稀释能减少样本中内源性抑制剂的影响。
- 使用已知游离激素浓度的血清校准品，它在分析中的行为表现应与患者样本一样。
- 在37°C进行试验操作步骤。

(i) 二步法，标记激素/回滴方法

20世纪70年代末首先开发了以研究为目的的二步法，随后改为生产商业性的FT4和FT3方法。这些方法在最初的温育阶段，使用高亲和力 ($>1 \times 10^{11} \text{L/mol}$) 的抗激素抗体，结合在固相载体（特细的Sephadex，抗体包被的小管或微粒）上，从稀释血清样本中结合一小部分总激素。经过短暂的温育期后，未结合的成分被冲洗掉，然后进入第二步，加入足量的标记激素去结合所有空的抗体结合点。冲洗完后，根据称重的标准品或参照方法赋值的游离激素校准品对结合在固相抗体的标记激素进行定量。在70年代末引进了标记激素类似物的一步法。这些新的测定方法比二步法节省人工。虽然比较研究显示二步法受白蛋白浓度和异常结合蛋白的影响为小，即结合蛋白的异常会负面地影响一步类似物方法的诊断准确性，但由于一步法省人工，结果二步法未能普及(147,171-173)。

(ii) 一步法, 标记激素-类似物法

一步标记激素类似物方法的理化有效性与激素类似物的发展有关。激素类似物分子结构和激素类似, 与血清蛋白完全不起反应, 但能与空的激素抗体结合点反应。符合这些条件时, 与信号分子(如同位素或酶)化学耦合的激素类似物能以经典的竞争性免疫测定模式, 它与游离激素竞争有限数目的未结合的抗体结合点。尽管这样的做法在理论上很有吸引力, 而且很早就声称成功, 但这种方法在技术上难以在实践中完成。激素类似物法主要设计是在高TBG状态(如妊娠)时, 能给出正常的FT4值。但是发现当存在异常白蛋白浓度、FDH、NTI、高FFA水平、或有甲状腺激素自身抗体时, 诊断的准确性很差。在20世纪80年代做了大量的努力来纠正这些问题, 包括增加专利的化学物来阻滞激素类似物与白蛋白的结合, 或是经验性地调整校准品的值来纠正与蛋白有关的偏倚。但在经历了10年的批评后, 已经放弃了大多数激素类似物的方法, 因为解决不了这些问题(147)。

(iii) 标记抗体方法

标记抗体方法也可测定游离激素, 它是激素抗体结合点的占位部分的函数。这种竞争性的方法用特异的免疫吸附剂来估计混合反应液中未占的抗体结合位点。一个相关方法使用固相的、不与血清蛋白反应的未标记激素/蛋白复合物(有时作为“类似物”), 来定量分析液相中激素抗体中未占的结合点。这些标记抗体方法的理化基础提示它们也如同旧的标记激素类似物方法一样, 容易有同样的错误。但是源于类似物与固相载体结合理化性质的差别, 给予了动力学的差异, 结果降低了类似物对内源性结合蛋白的亲和力, 使游离激素的测定更可靠。目前标记抗体法是受许多自动化操作平台欢迎的游离激素试验方法。

3.2.3.3 不同临床情况下FT4和FT3试验的性能

选择游离甲状腺激素检测方法(FT4或FT3)而不是总甲状腺激素(TT4或TT3)检验的唯一的理由是在甲状腺激素结合异常的患者中, 可以提高甲亢或甲减的诊断准确性, 这些甲状腺激素结合异常常常损伤总激素测定的准确性(60)。遗憾的是, 无论那种方法仍然不能预测目前游离激素方法的诊断准确性, 无论是从方法分类角度(一步法、二步法、标记抗体法等), 还是从体外试验的技术有效性来说, 如样本稀释试验。指数试验(FT4I和FT3I)和近来的配体分析方法, 都在一定程度上与蛋白有关, 当结合蛋白显著异常时, 会得出不可靠的数值(148)。游离激素试验应在37°C下进行, 因为当样本的TBG水平很低时, 在室温下操作会虚假地增加测定值(174,175)。

由于发生结合蛋白异常的频率很高, 造成总的和游离的甲状腺激素浓度之间的不一致, 这促使人们去开发游离激素试验。不幸的是, 当今没有适合所有临床条件中都普遍有效的FT4方法。当TBG浓度异常时, 大多数FT4检测结果比TT4更有诊断价值。结合蛋白异常能引起测定前或测定中的许多人为因素误差: 如试验示踪剂与白蛋白结合异常时; 或服用能将T4从TBG上置换下来的药物时; 或NTI的危重期; 或妊娠(见表1)。这些频繁出现的FT4试验假象提示与单独测FT4相比, TSH或TSH/FT4是更可靠的甲状腺功能测定参数。

当怀疑FT4结果有误时, 应该用不同制造商的方法来核查FT4(通常在不同的实验室进行)。此外, 或者另外选择检查FT4/TT4之间的关系来核查结果的不一致, 因为很少有干扰因素对两种检测方法的影响程度和方向都相同。

准则 14. 血清FT3估值试验的临床应用

血清T3对诊断甲亢几乎没有灵敏度和特异性, 因为直到甲减很严重之前, 机体通过增加T4向T3的转化可以维持正常T3浓度。NTI患者或热量缺乏的患者, 通常TT3和FT3值偏低。血清T3结合FT4对于诊断症状复杂或不典型甲亢和某些罕见情况很有帮助:

- 高血清T3往往是Graves甲亢复发的早期征兆。
- TT3/TT4比值可以用来鉴别是Graves甲亢还是非Graves甲亢。特别是TT3/TT4高比值 [$>20 \text{ ng}/\mu\text{g}$ (公制) 或 $>0.024 \text{ mol}$] , 提示为Graves病的甲状腺刺激特征。
(注: 按单位数值不同得不同比值)
- 血清T3测定可以对Graves甲亢治疗中的急性反应进行监测。
- 高的或反常的正常血清T3结合TSH受到抑制 ($<0.01 \text{ mIU/L}$) 可能提示NTI患者患有甲亢。
- 高的或反常的正常血清T3可能提示是胺碘酮引起的甲亢。
- 缺碘地区甲状腺肿患者应该测定FT3和TSH, 以查出是局灶性还是多灶性自主功能引起的T3甲状腺毒症。
- 先天性甲状腺肿常常合并高血清T3, 这是由于碘有机化功能障碍 (TPO缺陷) 或甲状腺球蛋白合成障碍。
- 当患者长期患有多结节性甲状腺肿时, 高血清T3往往早于由碘所致的甲状腺毒症。
- 高血清T3多见于TSH分泌性垂体肿瘤。
- 高血清T3多见于没有临床甲亢表现的甲状腺激素抵抗综合征。
- ^{131}I 扫描检测甲状腺分化癌 (DTC) 前, 血清T3检测有助于对L-T3抑制疗法的顺应性监测。
- 血清T3测定可用于从T3甲状腺毒症区分出轻度 (亚临床) 甲亢 (低TSH/正常FT4) 和由含T3的保健食品引起的T3甲亢。
- 血清T3测定对发现碘缺乏很有用 (特征是低T4/高T3) 。
- 血清T3测定在抗甲状腺药物治疗期间, 可确定是否持续存在T3过多, 尽管血清T4正常或稍低。
- 血清T3测定可用来检查停用抗甲状腺药物治疗后甲状腺毒症的早期复发。
- 在抑制性L-T4疗法中或故意服过量T4后, 血清T3测定可用来确定T3的超出程度。

(i) 妊娠

妊娠期间血清TBG的增加和白蛋白浓度的降低导致FT4的测定出现很大的与方法有关的差异。[见2.1.3](47,59)。与白蛋白有关的方法, 在近50%孕妇中, 由于妊娠7-9个月血清白蛋白浓度持续下降, FT4值低下, 引起明显的负偏倚, 因此在妊娠时用这种方法评估甲状腺状态是不适合的(59)。反之, 如示踪剂透析的方法出现与标准品相关的正偏倚, 这可能是示踪剂不纯所致(60)。使用按方法和孕期特定的参考值范围, 也许可以改进妊娠期间游离激素试验的诊断准确性。制造商开发他们的方法在这方面的信息几乎没有。



(ii) 早产儿

在不到怀孕28周出生的早产儿常见甲状腺素水平低, 而TSH不升高(39,176)。一些临床证据显示L-T4治疗可以促进胎儿神经系统的发育(176)。然而如上所述, FT4方法的差异看来, 使查出早产儿的低甲状腺素血症变成不可靠。

准则15. 异常甲状腺激素结合蛋白影响FT4试验

结合蛋白的异常造成分析前或分析FT4方法伪差的人为因素。当出现以下几种情况时, 需要通过TSH-TT4关系来评估甲状腺功能:

- 试验示踪剂与白蛋白结合异常 (如FDH)。
- 患者服用的药物将T4从TBG上置换下来, 如苯妥英、卡马西平或咪塞米。
- 患有危重或严重的非甲状腺疾病的患者。

(iii) 结合蛋白的遗传异常

白蛋白以及TBG的遗传性和获得性变异会改变与T4或T3的亲合力, 引起甲状腺功能正常者的总激素浓度异常, 而游离激素浓度正常(141)。家族性异常白蛋白高甲状腺素血症(FDH)中, 白蛋白的变异对T4和一些T4类似物示踪剂的亲合力显著提高, 导致用这些示踪剂时, 血清TT4估值虚假升高(注)(145,177)。FDH的血清TT4、FT4值, 和一些FT4配体法给出超过正常的值, 但是用其他方法, 包括平衡透析法测定的TT3、FT3、TSH和FT4值均正常(177)。如不知道一些拉丁美洲人群中FDH白蛋白变异率接近1:1000, 则能导致对甲状腺试验结果的不恰当解释, 甚至会误导切除甲状腺 (178)。

(iv) 自身抗体

某些患者血清中含有甲状腺激素的自身抗体, 导致总或游离激素测定出现方法学的人为误差(143,145)。这种抗体干扰与方法有关。吸附法内源性抗体将T4或T3的示踪剂错误地认为是结合的, 双抗体法错误地将此认为是游离的, 分别引起血清TT4或TT3值虚假地降低或升高(144, 145)。某些FT4试验使用的T4示踪剂类似物可能结合这些自身抗体, 导致虚假的高血清FT4结果。甚至报道存在抗固相抗体, 可干扰标记抗体试验中的游离甲状腺激素测定(179)。

(v) 甲状腺毒症和甲减

甲状腺毒症的TT4和TT3的关系是呈非线性的。在严重的甲状腺毒症中, TT4和FT4的升高不成比例。这种非线性关系反映了TBG水平下降和TBG结合能力的大幅度提升, 尽管增加了与TTR和白蛋白的结合(180)。同样地, 由于T4和TBG的高结合, 使FT3偏低。相反的情形存在于严重的甲减, 减少了与所有结合蛋白的结合(180)。在此情况, 过多的未占位的结合点可能使FT4对治疗反应迟钝。这表明初始大剂量L-T4剂量治疗是最快恢复甲减患者FT4水平的一种方法。

执笔注: 应该是 TT4; 原文是 FT4, 然而 FT4 仅仅反映 TT4 的改变, 参见 Jerry Nelson 在临床化学杂志的文章。

(vi) 与甲状腺激素结合竞争的药物

一些治疗和诊断制剂, 如苯妥英、卡马西平或呋塞米, 可能竞争性地抑制甲状腺激素与样本中血清蛋白的结合。结合蛋白能力的降低导致某些情况的FT4急剧上升, 增加了激素作用, 证据是TSH下降(181)。FT4测定的增高受到方法中血清稀释的影响, 这也见于透析方法(182,183)。在长期给这类竞争性药物期间, 增加了激素的清除。但是最终系统重建了“正常”平衡, FT4水平正常化是以降低TT4水平为代价的。此时撤药, 开始会因出现许多载体蛋白结合游离激素引起FT4下降, 通过甲状腺组织释放更多的激素重新建立平衡, 使FT4再正常化。这些竞争剂作用的时间和强度随竞争剂的半寿期而异。

许多与T4和T3竞争结合TBG的药物和因子引起FT4或FT3的可利用率急剧上升。不少与甲状腺激素结合的竞争剂常作为治疗用药, 和T4相比它们对TBG的亲合力并不相同(96,184)。例如, 呋塞米与TBG的结合的亲合力是T4的1/3, 而阿司匹林是T4的1/7(170,185)。观察体内这些制剂的竞争作用是它们对TBG的亲合力, 而不是治疗浓度、游离组分、或者是它们与非TBG蛋白, 特别是与白蛋白的亲合力(170,186)。

目前使用稀释因数的FT4分析方法, 可能查不出由于结合蛋白竞争剂的存在而继发的FT4升高。例如一个含T4 (游离组分1:4000) 和竞争性抑制剂 (游离组分1:100) 的样本, 分步进行稀释, 最多到1:100稀释FT4浓度会得以保持, 再稀释则引起T4从结合蛋白进行性解离。相反, 仅1:10稀释, 游离药物浓度就会显著下降。因此, 使用高稀释样本的FT4分析方法, 由于药物置换激素的作用与T4结合的竞争会被低估FT4。使用均衡的平衡透析法和对未稀释血清进行超滤可以减少这种人为假象(94,165,187,188)。

(vii) 肝素治疗所致FT4值增高人为假象

大家知道白蛋白浓度正常时, 非酯化的脂肪酸即游离脂肪酸 (FFA) 浓度>3mmol/L时会从TBG中置换激素, 从而升高FT4(84,97,98,100,101)。用肝素, 包括低分子量肝素制剂治疗患者的血清可出现虚假的高FT4值, 这是继发于在体外肝素能诱导脂肪酶活性而增加FFA。即使肝素剂量低到只有10U也会见到这种问题, 并随样本贮存而恶化。增加血清甘油三酯浓度, 低血清蛋白浓度或在37°C时延长试验温育期都会加重这个问题。

(viii) 严重的非甲状腺疾病(NTI)

近20多年来搜集了大量证据, 报道了各种FT4测定法对NTI住院患者的特异性[见2.2.2]。文献报道的结果令人疑惑, 并由于研究患者人群的异质性以及结果与方法有关, 使此问题更为复杂化。长期以来制造商不断修改他们的方法, 试图在结合蛋白异常的情况下, 在现有设备和其它情况下改进他们的特异性。但是目前方法的真正组成仍然为私人的专利所有, 而制造商也很难从这些患者获得有家谱的样本来严格测试他们的检测方法。在最近的一次FT4方法比较研究中, 接受了包括肝素和糖皮质激素等多种药物治疗的骨髓移植患者, 他们的甲状腺功能正常, 在移植后第七天发现了与方法有关的明显差异。在此研究中, 绝大多数人(95%)TT4浓度正常, 约一半人的血清TSH<0.1mU/L。这与接受糖皮质激素患者相一致。相反, 不同FT4方法分别报告了或升高或低于正常的值。某些方法在20%-40%患者中报告FT4估值高于正常, 可能反映了上面讨论过的静脉注射肝素的作用[见3.2.3.3(vii)]。相反, 类似物示踪剂方法受到示踪剂与白蛋白结合的影响, 20%-30%患者得到低于正常的FT4估值(101)。这类FT4测定的人为伪差造成FT4和TSH的结果不一致, 增加了误诊甲状腺症或继发性甲减的风险, 提示在危重患者中, TT4测定可能更可靠。

3.2.3.4 FT4方法的评价

遗憾的是, 多数游离激素估值方法在引入临床应用前, 未能得到充分的评价。很少有制造商将他们的方法扩展到除甲亢或甲减门诊患者、孕妇和各种“NTI住院患者”以外的患者进行验证。而且, 目前尚未就评估FT4估值方法的最佳标准取得一致意见。还不能介绍一种新方法, 它不仅区分甲亢、正常和甲减, 并与现存的方法具有可比性, 也就是没有任何一个游离激素估值方法可以满足这些标准, 而不必给出有关真正生理性的游离激素浓度的信息。

准则16. 对制造商: 评估FT4估值试验的诊断准确性

- 应该用各种疾病的门诊患者的家谱样本来测试方法的诊断准确性, 这些患者存在以下结合蛋白障碍:
 - TBG异常 (高雌激素和先天性TBG过多和缺乏)
 - 家族性异常白蛋白高甲状腺素血症 (FDH)
 - 甲状腺运载蛋白 (TTR) 亲和性增加
 - T4和T3自身抗体
 - 类风湿因子
- 用加入了相应常用浓度的常用抑制剂的正常血清样本来测试对方法的干扰, 这个抑制剂浓度能将未稀释血清中激素从结合蛋白中置换出来。稀释后这些作用丧失, 如:
 - 呋塞米30μmol/L
 - 水杨酸300μmol/L
 - 苯妥英75μmol/L
 - 卡马西平8μmol/L
- 列出所有已知的干扰, 指出造成错误的程度和方向
- 用文件证明在试验温育阶段, 肝素在体外对NEFA (非酯化脂肪酸) 的产生有作用

新方法应该或者测试各种情况有家谱的临床样品, 特别是那些影响测定可靠性的样本; 或者在正常血清样本中加入或调整成分, 以检查特定的标准(148)。无论采用何种方法, 关键问题是样品和标准品的相似性, 因为所有试验都具有可比性。其他方法包括: 测定加入L-T4后的定量回收, 或者确定血清稀释的影响, 理论上正常血清稀释100倍后引起FT4浓度下降不明显 (小于2%) (58,94,152,189)。然而这些方法只是研究方法的“蛋白依赖性”, 也就是FT4从结合激素中游离出去的相关程度(48)。将高度稀释样本的方法与低度稀释样本方法作比较时, 这些方法预期会给出不佳的评估。当评估疑难临床样本时, 没有证据证明这些方法真正反映了方法的诊断准确性。最终, 它与任何诊断方法一样, 只有对大量有结合蛋白正常和异常患者的各种血清样本进行全面谱系的检测, 无论是否有甲状腺功能紊乱; 或者检测那些应用了已知能影响甲状腺激素与血浆蛋白结合药物的患者血清, 才能证明FT4方法的特异性。只在使用方法一段时间后, 才可能发现一些意想不到的干扰, 例如类风湿因子可以虚假地升高血清游离T4估值(112)。血液中的物质, 如尿毒症患者的有机酸产生的非特异性荧光可能是造成非特异性干扰的另外一个原因 (190)。



首先要注意的是对可能在试验结果中引起非特异干扰的样本给予特别的关注(98)。理想情况下, 在门诊患者中包括的样本有: a) TBG异常(妊娠, 口服避孕药, 先天性TBG过多或缺乏); b) 家族性异常白蛋白高甲状腺素血症(FDH); c) T4和T3自身抗体; d) 干扰物质, 如类风湿因子; 和e) 广谱的药物治疗。对住院患者, 应该检查3类患者: a) 没有甲状腺功能紊乱的患者但由于NTI有低或高的TT4; b) 甲减患者伴有严重NTI; 和c) 甲亢患者伴有严重NTI。但是从这些患者获得各种家谱的样本对于制造商是极其困难的。因为制造商没有在危重患者中充分地测试他们的方法, 这样临床医师很难有信心确认, 这些患者的异常FT4结果反映了真正的甲状腺功能紊乱, 而不是因为NTI。对于可疑的甲状腺功能紊乱的住院患者, 合并血清TSH和TT4检测也许比单独FT4试验能提供更多的信息, 说明TT4值与疾病严重程度有关。NTI的低TT4状态一般都特定地限制在危重的重症监护患者。一个无严重疾病而TT4值偏低的患者应考虑垂体功能紊乱。对门诊患者, 血清FT4测定比TT4测定更具有诊断准确性。然而当异常的FT4结果与临床症状不符合, 或者存在无法解释的TSH和FT4之间的不一致, 有必要申请进行TT4测定来验证。另一个选择, 实验室可以或者把样本送到使用其它制造商的FT4方法的不同实验室, 或者送到可以用物理分离法, 如平衡透析法或超滤法来测定FT4的参考实验室。

3.2.3.5 甲状腺试验中的干扰

理想的情况下, 样本中存在的任何化合物, 药物或内源性物质(如胆红素), 在任何浓度都不干扰甲状腺激素试验。制造商在研究化合物的数量和测试浓度上差异很大。实验室通常只能根据FT4和TSH之间的结果关系的“推理核查, sanity check”来主动地检查有无干扰。如果只做一项试验, 通常是临床医师观察到报告值和患者临床情况不一致, 首先怀疑有干扰。典型的实验室核查, 如验证样本的同一性和进行稀释, 并不总能查出干扰。对TT4或FT4测定的干扰常得出不相宜的异常值, 但血清TSH水平正常(表1)。对竞争性或非竞争性免疫测定方法的干扰分成3类: (i) 交叉反应问题, (ii) 内源性分析物的抗体, (iii) 药物相互作用(191)。

(i) 交叉反应

抗体试剂不能在分析物和结构相似的分子之间进行选择性地区分, 导致了交叉反应问题(192)。甲状腺激素测定对这种干扰的敏感性比TSH弱, 因为碘化甲状腺激素抗体试剂的选择特异性是通过纯化制剂筛选出来的。现有的单克隆、亲和纯化的多克隆抗体在目前的T4和T3试验中, 对所有碘化物前体和L-T4代谢产物的交叉反应已降低至0.1%。但是有报道说3,3',5'-三碘甲状腺乙酸(TRIAC)干扰FT3测定, 而D-T4干扰FT4测定(14,135)。

(ii) 内源性自身抗体

在自身免疫甲状腺疾病以及非甲状腺疾病患者的血清中经常可以找到T4和T3的内源性自身抗体。尽管他们很普遍, 但自身抗体造成的干扰相对很少。这些干扰或是假性低值或是假性高值, 取决于所用试验的方法类型和组成(193)。

(iii) 药物干扰

药物干扰是由于血清样本在体外存在足量的治疗和诊断制剂, 干扰了甲状腺功能试验(67,6)。应用荧光信号的甲状腺试验可能对样本中的含荧光基团的治疗和诊断制剂敏感(190)。肝素静脉给药情况下, 脂蛋白脂酶体外激活可诱导体外FFA的生成, 假性升高FT4值[见3.2.3.3(vii)](84, 97,98,100,101,167-179)。

3.2.3.6 血清FT4和FT3的正常参考值范围

应用物理分离法对大多数FT4估值试验的校准品赋值。临床实验室所用的各种配体测定法得出的参考值范围之间, 比各种物理分离法得出的参考值范围之间更为接近一致。FT4免疫测定方法的参考值范围约在9-23pmol/L (0.7-1.8ng/dL)。相反, 采用物理分离的平衡透析法得出的FT4上限超出了30 pmol/L (2.5ng/dL)。FT3免疫分析方法参考值范围约在3.5-7.7pmol/L (0.2-0.5ng/dL)。应用物理分离法的FT3方法目前只作为研究用(102)。

3.2.3.7 校准的标准化

仍未开发出游离激素测定的国际性标准物质或标准方法。虽然已有TT4测定的候选参考方法, 但是很难将这些方法适应游离激素测定(139)。每一方法和制造商都是从自己期望的独特角度来解决标准化问题。

FT4估值需要两个独立的试验(示踪剂平衡透析法和超滤法以及指数方法), 总激素和游离组分中激素的测定。总激素的测定是经过称重制备的校准品来标准化, 校准品来自商业化的高纯度激素物质。游离组分的测定是在透析液或超滤液中进行放射性计数。另一种选择指数方法, 是用甲状腺激素结合比值 (THBR) 来测定结合蛋白的饱和度或结合能力, 有时也称为“摄取率”试验。THBR的标准化是相对于含正常结合蛋白的血清而言的, 其赋值为1.00 (见3.2.2.2)。

配体游离激素估值方法情况更复杂些。一般这些试验都提供标准品, 这些标准品是通过参考方法(通常用平衡透析法和RIA法测定透析液中的FT4浓度)已知或设定的游离激素的赋值。这通常是制造商典型做法, 以制定人类血清为基质的游离激素值, 试剂盒中包括含有激素和其结合蛋白的校准品。另一种选择, 对于高结合的激素, 如甲状腺激素, 可以用质量作用定律来计算游离激素浓度(194)。总激素浓度, 即血清样本中总的激素结合能力, 以及平衡常数提供了计算游离激素浓度的必要信息(194)。这个方法对制造含正常TBG结合能力的人类血清为基质的质控品和校准品是有效的。这使制造商可以制造有固定浓度值的校准品和质控品。

校准品的使用, 制备如上所述, 也补偿了从结合蛋白中过分提取激素的问题。具体在甲状腺素和三碘甲腺原氨酸测定中, 试剂盒中的抗体可以结合游离激素但还提取了相当量 (~1%-2%) 的结合激素。如果直接测定游离激素, 由于过分提取了结合激素, 游离激素浓度会上升。但是, 使用了基于人类血清已知游离激素浓度的校准品, 使分析读数系统(无论是放射性同位素、酶、荧光或化学发光)所赋予的特定信号水平与游离激素的特定浓度存在一个比例关系。但是, 只有当从校准品中提取激素的百分比与从患者样本中提取的相同时, 这个方法才有效。当样本中结合蛋白异常时, 情况往往不是这样(如先天性高或低TBG, FDH, NTI等)。

3.2.4 游离激素测定- 展望未来

从1970年代, 开始了用免疫测定方法定量分析生物体液内甲状腺激素和甾体激素的时代。这个时代现在行将结束。正在兴起用先进的质谱法定量分析生物体液内的激素(138)。没有理由怀疑质谱法比免疫测定法必将能更好地定量, 因为具有更佳的分析特异性而且干扰较少。迄今为止这项技术仅用于TT4测定(139)。但在定量分析前, 对总激素测定来说, 必仍要将激素从结合蛋白完全释放出来。对游离激素测定来说, 也必仍要用物理分离法分离游离激素和蛋白结合激素。在任何方法被认为是金标准之前, 为了完成分离游离激素和蛋白结合激素, 将仍然需要新的分离技术。小分子固有的稀释效应是平衡透析法的一种限制范围, 需要克服。超滤法有希望, 但目前这种方法对此任务不是有漏洞就是不实用。质谱测定血清蛋白与激素组成的复合物时, 只有将样本制备步骤与定量测定结合在一起才行。理想的游离激素参考方法是在37°C时使用超滤, 以避免稀释效应, 可以用质谱法直接测定超滤液中的游离激素。

准则17. 对实验室: 进行FT4和FT3测定的

- 临床医师应该确实得到: 用来评估各种结合蛋白异常和患有严重疾病的患者的甲状腺功能状态的试验, 受药物影响, 和试验诊断准确性的信息。
- 当临床医师要求时, 实验室应该进行总激素测定或用参比方法重新测定FT4来验证有疑问的结果, 参比方法指的是用物理法, 如直接平衡透析法或超滤法从结合激素分离出游离激素。
- 对有疑问结果的样本, 应该用不同制造商的方法来重新测定以检查是否存在干扰(如有必要, 送其他实验室检测)。



3.3 促甲状腺激素 (TSH)

二十五年来, TSH方法可以查出TSH升高, 这是原发性甲减患者的特征。然而现代高灵敏的TSH方法也可检出原发性甲亢特有的低值TSH。这些新方法往往基于非同位素免疫测定分析(IMA)原理, 并可用在多种自动免疫分析仪器平台。大多数目前通用的测定方法的功能灵敏度可以达到0.02mIU/L甚至更低, 这在观察甲减和甲亢间的TSH变化全范围时是必需有的检出限。正是由于高的灵敏度水平, 才能从轻度(亚临床)甲亢以及某些非甲状腺疾病(NTI)对TSH的抑制(0.01 - 0.1 mIU/L)中鉴别出严重的Graves甲亢, Graves甲亢极度抑制了TSH(TSH < 0.01 mIU/L)。

最近10年, 由于测定TSH灵敏度的提高, 改变了应用TSH的诊断策略。目前认为: 检测TSH比检测FT4能更敏感地诊断甲减和甲亢。正因为这样, 现在某些国家提出将“TSH首选”策略用来诊断门诊患者的甲状腺功能紊乱(在TSH方法的功能灵敏度为 ≤ 0.02 mIU/L的条件下)。其他国家仍倾向采用同时检测TSH和FT4的组合方法, 因为“TSH首选”策略会漏诊中枢性甲减的患者(见3.3.3.6)或分泌TSH的垂体瘤[见3.3.4.7(i)情况](19,195-197)。此外, “TSH首选”策略还有一个不足之处, 在一些不常见的TSH/FT4比值失调时, “TSH首选”策略不能将TSH和FT4的关系作为出现干扰或者不正常情况的“推理核查”来应用(表1)。

3.3.1 特异性

3.3.1.1 TSH的异质性

TSH是一类异质分子, 不同的TSH异构体存在血液以及垂体提取液中, 常用垂体提取液用来做标准化方法[医学研究委员会(MRC)80/558]。将来, 可能将重组人促甲状腺激素(rhTSH)制剂作为标准化TSH免疫分析法的首要(一级)标准品(198)。现在应用TSH单克隆抗体的测量TSH的IMA方法几乎完全消除了与其它糖蛋白类激素的交叉反应性。这些方法可以检测出某些甲状腺功能正常个人以及一些垂体异常病症者所分泌的异常TSH异构型的不同表位点(抗原决定簇)。例如, 由于垂体和下丘脑引起的中枢性甲减会分泌出异常数量的糖基化和生物活性降低的TSH异构体。大多数方法将这些异构体错误地检测为正常甚至升高的TSH浓度(195,197,199)。同样, 错误表现为正常TSH水平还见于TSH-分泌型垂体肿瘤引起的甲亢, 这可能是由于分泌了生物活性增高的TSH异构体(196,200,201)。

3.3.1.2 技术问题

技术问题, 特别是由于洗脱步骤, 可能会导致虚假的TSH高值(202)。另外, 样本内的任何干扰物质(如嗜异性抗体HAMA)会产生高的本底或者在捕获抗体和信号抗体之间形成假性搭桥, 从而在固体载体上产生高信号, 读出虚假的高值结果。(见2.3.3)(203,202)。

3.3.1.3 检查干扰TSH结果的方法

常规的验证分析物浓度的实验室方法, 如稀释法并不总能查出干扰问题。因为不同的方法对多数干扰物质的易感度各不相同, 最实用的测试干扰的途径是采用不同制造商的方法测定样本中TSH浓度, 并检查各个TSH值之间是否存在显著的不一致性。当不同方法测量同一样本所得的TSH的变异超过了预期值(差值>50%), 可能存在干扰。也可使用生物学检查来验证非预期的结果。可用TRH兴奋试验来验证不协调的低TSH值, 在正常人TSH增加到为基础值的2倍以上(或增加 ≥ 4.0 mIU/L)(204)。当TSH出现不协调地升高, 甲状腺激素抑制实验(1mg L-T4或者200 μ g L-T3, 口服)在48h内, 可在正常人抑制血清中TSH值超过90%(注)。

执笔注: 需要说明上述的检测剂量远超出一般给药剂量, 易引发医源性甲亢。

准则18. 调查门诊患者血清不协调的TSH值

在甲状腺状态稳定的门诊患者中出现不协调的TSH结果可能是一个技术误差。特异性的丧失来自实验室误差、干扰物质(如异嗜性抗体)、或者不常见的TSH异构体(准则7和表1)。临床医师可要求临床实验室做如下验证:

- 确定样本的同一性(要求实验室检查在检测过程中样本有无换错)
- 如TSH异常升高,要求实验室重新测定稀释样本来检查平行性,最好用甲亢患者的血清进行稀释。
- 要求实验室用不同制造商的方法对同一样本重新测定(必要时可以寄送其它实验室)。如样本的方法间差异>50%,表明可能存在某种干扰物质。
- 一旦排除了技术误差,生物学验证可能是有用的:
 - 如果测得不协调的低TSH值,可使用TRH兴奋试验,预期正常个体TSH反应使TSH增加到为基础值的2倍以上(或增加 ≥ 4.0 mIU/L)
 - 用甲状腺激素抑制试验来验证不协调的高TSH值。口服1mgL-T₄或200 μ g L-T₃,正常反应是在48h内,抑制血清TSH值超过90%(注)。

3.3.2 灵敏度

历史上,血清TSH方法的“质量”是以临床标准来确定的,即此方法能从临床患者Graves甲状腺毒症的极低TSH浓度(<0.01mIU/L)中鉴别出甲状腺功能正常者(~0.4 to 4.0 mIU/L)的能力。目前大多数检测TSH分析方法都声称检出限为0.02mIU/L或者更低。“第三代”方法(202)。

准则 19. 功能灵敏度的定义

应该使用**功能灵敏度**来决定分析的**最低检出限**。

- TSH分析的功能灵敏度的定义是用推荐方案(见准则20)决定的批间变异系数(CV)为20%的值。

TSH分析的功能灵敏度的定义是用推荐方案(见准则20)决定的批间变异系数(CV)为20%的值。

执笔注: 需要说明上述的检测剂量远超出一般给药剂量,易引发医源性甲亢。

准则20. 测定TSH功能灵敏度及批间精密度的方案

检测涵盖分析范围的人血清库(多人血清基质)至少十个批次。人血清库中的最低值应比最低检测限高10%，而最高值应为最高检测限的90%。

- 测定血清库中最高值后，再测定其最低值以评估携带污染。
- 采取与患者样本同样的试验模式(即检测单份(次)或者双份(次))。
- 仪器操作者应该不知道测定样本中有血清的情况。
- 批次间隔时间必须跨越有临床代表的时区。(如在门诊间隔6-8周测TSH)。
- 在测试过程中，至少使用两种不同批号的试剂和进行两次仪器校准。
- 当运用两个相似的仪器作同一种分析时，应定期在每一仪器上作双份盲试来验证两者的相关性。

制造商在很大程度上放弃了用“分析灵敏度”参数来决定TSH分析的灵敏度，因为它是从零值校准品的批内精度计算得出，这并不能很好地反应临床实用上的灵敏度(126,127)。相反，目前多采用“功能灵敏度”参数(202)。“功能灵敏度”是从方法的批间CV为20%而计算得出，用来建立试验的最低报告限(202)。

一定要严格遵循推荐的方案(准则20)来测定功能灵敏度，它是按在临床实际中能评估出方法的最小检出限而设计，并保证此参数真实地反应出方法的最低检出限。所设计的方案考虑到临床实际中影响TSH方法不精密度的各种因素。包括如下：

- 1) 患者血清和标准稀释液间基质的不同
- 2) 时间过长引起精密度的漂移
- 3) 制造商提供试剂的批间差异
- 4) 仪器校准和操作者导致的差异
- 5) 高浓度样本给低浓度样本带来的携带污染 (205)

用功能灵敏度的限值作为最低检测限是一种稳妥的方法，以确保每个报告结果不是检测的“噪音”。此外，20%的批间CV大致是诊断检测所允许的最大不精密度(表5)。

准则 21. 对实验室: 进行TSH检测

功能灵敏度是选择TSH方法的最重要的性能标准。虽然操作因素也很重要，如仪器使用、温育时间、成本、和技术支持，但只应放在第二位考虑。实验室应确定校准周期，它可优化功能灵敏度，可能要比制造厂商推荐的更为频繁地进行再校准：

- 选择功能灵敏度为 ≤ 0.02 mIU/L的TSH方法。
- 使用准则20，建立与制造商无关的功能灵敏度。
- 没有科学理由可以将灵敏度低的试验结果机械式人为推导反映为灵敏度高的试验结果。(灵敏度低可产生假性升高而不是假性偏低，结果让对应的辅助检验T4失误!)



3.3.3 TSH参考值区间

最新公布的美国NHANESIIIUS调查显示: TSH值尽管存在性别、年龄、种族的差异, 但不认为有必要在临床实践中考虑这些因素而调整参考值区间(18)。血清TSH水平有昼夜变化, 晚间达峰值, 最低值见于10:00-16:00, 约为峰值的50% (123,124)。这种生物变化不会影响对试验结果的诊断解释, 因为对大多数门诊患者, 临床TSH检测在8:00—18:00之间, 而建立血清TSH参考值区间的样本也常在此时间段采集。应选择来自TPOAb抗体阴性、门诊、没有个人或家族甲状腺功能异常病史, 无可见甲状腺肿的甲状腺功能正常者的样本来建立TSH值参考值区间。不同方法参考值区间的差异, 反映了不同试剂盒中试剂识别抗原表位点的不同, 以及选择合适正常人严格程度的不同。

甲状腺功能正常者体内血清TSH浓度向着分布高值方向偏斜, 出现较长的“尾巴”。经过对数转换后数值呈正态分布。对于参考值区间的计算, 习惯采用TSH值的对数计算出其95%的参考值区间。(在富碘的人群, 典型的人群均值是~1.5 mIU/L, 范围0.4 - 4.0 mIU/L) (202,206)。但是, 一般人群中轻度(亚临床型)甲减比较高发, 看来目前人群参考值区间的上限值的偏斜, 是因为包含了这些隐性甲状腺功能紊乱的人员在内(18)。

准则 22. 血清TSH的参考值区间

至少调查120名经过严格筛选的甲状腺功能正常的志愿者, 从其对数换算值的95 %可信限建立TSH参考值区间, 这些志愿者具备:

- 检测不到自身抗体、TPOAb或TgAb (用灵敏的免疫分析法);
- 没有甲状腺功能紊乱的个人或家族病史;
- 没有可见或可触及的甲状腺肿;
- 没用药物治疗 (雌激素除外)。

3.3.3.1 TSH的参考值上限

过去20多年中, TSH参考值的上限逐渐从~10降至约~4.0-4.5mIU/L。上限的降低反映了几方面的因素, 包括: 目前应用于免疫分析测定的单克隆抗体的灵敏度和特异性有了提高; 认识到正常TSH值应该呈对数分布; 更重要的是提高了预筛受试者的抗甲状腺抗体试验所用单克隆抗体的灵敏度和特异性。近来, Whickham合作组的随访研究发现: 在首次评估的血清TSH>2.0 mIU/L的个人, 在此后20年中可能发展为甲减的比值比(odds-ratio, OR)升高, 特别是如果甲状腺抗体也升高(35)。这种甲减比值比(OR)的升高, 也见于抗体阴性的人员。可能是由于在初期试验中, 使用了不灵敏的微粒体抗体凝集试验, 无法检测出甲状腺抗体低值的人员(207)。即使目前高灵敏度TPOAb的免疫分析试验, 也可能识别不出所有隐性甲状腺功能紊乱者。在未来, 看来甲状腺功能正常的血清TSH参考上限会降至2.5mIU/L, 因为>95%经过严格的筛选的甲状腺功能正常的志愿者的TSH值在0.4- 2.5 mIU/L之间。

执笔注: 按照与原文执笔Dr. Carole Spencer的通讯和最近的准则(Baskin et al., Endocrine Practice 2002;8:457-469; Baloch et al., Thyroid 2003;13:57-67), TSH参考值范围应考虑为 0.3-3.0 mIU/L。患者核查血清TSH水平高于3.0 mIU/L可能处于早期甲状腺功能衰竭危象(thyroid failure), 特别是如果检测到TPO 抗体。

3.3.3.2 TSH的参考值下限

在免疫测定分析时代之前, TSH的方法因为太不灵敏而无法测定出参考值区间的下限(209)。但目前的方法已能测定低端的TSH值, 现在提出其下限在0.2-0.4mIU/L之间(202)。随着测定技术的灵敏度增高, 越来越感兴趣的是要知道真正的正常下限究竟是多少, 从而可以更好地界定有无轻度(亚临床型)甲亢。目前研究提示: TSH值在0.1- 0.4mIU/L的范围时, 可能已经表示甲状腺激素过多, 在老年患者可能伴有房颤和心血管死亡危险性的增加(36,37)。所以在为参考值区间研究选择正常队列时, 重要的是仔细排除可能伴有甲状腺肿和其他疾病或应激的人员。

3.3.4 血清TSH检测的临床应用

3.3.4.1 门诊患者甲状腺功能紊乱的筛查

假如所用TSH方法具有等于或小于0.02mIU/L的功能灵敏度, 大多数专业协会推荐这种TSH用于门诊患者以发现和筛查甲状腺功能紊乱(4,10,210)。因为灵敏度不高的TSH方法容易产生低于正常TSH浓度样本得出假阴性结果(正常范围), 所以TSH方法灵敏度的高低对于可靠地检出低于正常的值是至关重要的(202)。血清TSH和FT4的对数/线性反比关系提示血清TSH是优先选择的试验, 因为只有TSH才能查出轻度(亚临床)甲状腺激素的不足或过多(见图1)(见2.1.1)。轻度(亚临床)甲状腺功能紊乱指的是TSH异常但是FT4正常, 人群调查报告发现亚临床甲减和亚临床型甲亢分别占~10%和2%(10,18,25,211)。虽然TSH的临床灵敏度很高, 但是以TSH为核心的策略本身有两大内在重要限制。首先, 这个检测的前提是假设下丘脑-垂体功能完整和正常。其次是假定患者的甲状腺状态稳定, 即, 患者在近期没有接受过任何对甲亢或者甲减的治疗(见2.1.1和图2)(19)。如果不能满足这两个前提之一, 血清TSH的结果能误导诊断(表1)。

在调查FT4和FT3正常而血清TSH异常的原因时, 重要的是要认识到TSH是不稳定的激素, 并受非甲状腺的垂体的各种影响(如糖皮质激素类、生长抑素、多巴胺等), 从而破坏TSH/FT4的正常关系(69-71,212)。在诊断由于亚临床型甲状腺功能紊乱所引起的单独TSH异常之前, 一定要隔~3周后抽取新鲜样本来再次确认TSH异常。在确认TSH异常升高后, 测定TPOAb有助于确定是否存在甲状腺的自身免疫, 它是引起轻度(亚临床)甲减的原因。TPOAb浓度越高, 发生甲状腺功能的衰竭越快。在确认TSH异常降低后, 很难就明确诊断是轻度(亚临床型)甲亢, 特别是未接受L-T4治疗的年老患者(34)。如果患者有多结节甲状腺肿, 那么甲状腺的自主性可能就是引起轻度(亚临床)甲亢的原因(213)。

目前对开始筛查的最适年龄尚无一致定论。美国甲状腺协会准则推荐从35岁起, 以后每5年筛查一次(10)。决策分析似乎支持这个策略符合成本效益, 特别是对女性而言(215)。在未就长期TSH异常的临床后果和结局达到更多一致意见前, 对用TSH筛查轻度(亚临床)甲减和甲亢仍有争议。还需要就怎样的异常TSH水平进行治疗达成一致(216,217)。

目前有确凿的证据提示, 对于TSH持续异常者, 如不治疗可能会有较大的危险。特别是一项最新研究报告: 当患者存在长期的血清低TSH时, 心血管方面的死亡率较高(37)。另外, 越来越多的报道发现: 妊娠早期出现轻度甲减会增加胎儿死亡率以及损害后代的智商(63-65)。这类研究支持了进行早期甲状腺功能筛查的效益, 特别是对于育龄女性。



3.3.4.2 老年患者

大多数研究都支持对老年患者进行甲状腺功能紊乱筛查(10,35,214)。与年轻患者相比,老年患者低和高TSH(伴正常的FT4)的发生增高。临床见到的高TSH和TPOAb阳性的桥本甲状腺炎发生率随着老龄化而增多(35)。老年人的低TSH的发生也增高(35)。低TSH可能是一过性的,但约2%的老年人呈现持续性低TSH,同时不伴有明显甲状腺功能紊乱(36,214)。这可能是由于FT4/TSH调定点发生变化、或TSH生物活性的改变、或甲状腺激素的轻度增多(218)。最近Parle等的一项研究显示,这些患者的心血管死亡率较高(37)。这意味着需要积极地调查导致持续低水平TSH的原因(37)。在缺碘地区,需要特别排除多结节甲状腺肿是其原因(213)。应详细审查患者既往的药物服用历史(包括非处方制剂,其中一些含有T3)。如果没有甲状腺肿,没有服用药物历史,应在4-6周后复查血清TSH和TPOAb。如果TSH的水平仍低而同时TPOAb阳性,则应该考虑自身免疫性甲状腺功能紊乱的可能性。应在个案基础上治疗低TSH。

3.3.4.3 L-T4替代治疗

现有文献证明,当逐渐加大L-T4替代治疗剂量,使血清TSH达到治疗靶值范围(0.5-2.0 mIU/L)时,甲减患者的血清FT4水平可在参考值区间的上1/3。

治疗甲减的首选长期替代药物是L-T4而不是甲状腺干粉。

成人每日平均服用L-T4 1.6μg/kg体重/日(1.6μg/kgbw/day)常常可以达到甲状腺功能正常。儿童需要较高剂量(到4.0μg/kg bw/day),而老年人需要较低剂量(1.0μg/kgbw/day)(221,222)。必须根据患者年龄、体重和心脏的情况来个体化地建立患者的初始剂量和最适服药时间,以确立完全的替代剂量。妊娠期间(见2.1.3)以及绝经后开始激素替代治疗(223)时对甲状腺素的需要量增加,这些都可能增加L-T4的治疗剂量。

一般认为对原发性甲减的标准L-T4替代剂量的治疗目标是血清TSH浓度在0.5到2.0mIU/L之间。

当患者是垂体和/或下丘脑功能紊乱引起的中枢性甲减时,L-T4替代剂量的治疗目标是血清FT4浓度在参考值区间上1/3处。

典型的治疗方案是逐渐增加L-T4替代治疗的量直至完全替代,一般每6-8周增量25μg直至达到完全替代剂量(血清TSH 0.5-2.0mIU/L)。如图2所示,TSH缓慢地和新的甲状腺激素水平达到再平衡。严重的慢性甲减患者的脑垂体的促甲状腺细胞会增生,俨如脑垂体腺瘤,但在L-T4替代治疗数月后消退(224)。服用会影响L-T4代谢的利福平或者抗惊厥药物的患者,也可能需要增加L-T4剂量使血清TSH浓度维持在治疗靶值范围。

当怀疑患者间断或者不顺应L-T4治疗时,应使用FT4和TSH二者来监测甲减患者。反常的高TSH合并高FT4常常提示服药顺应性可能是问题。特别是,就诊前将漏服的多次L-T4急速口服会升高FT4,但由于“延迟效应”,血清TSH并没有恢复到正常水平(图2)。血清TSH实际上类似于血红蛋白A1c是一种长效的FT4传感器!当改变L-T4剂量或者更换其他品牌的甲状腺药物治疗后,至少需6周后再复测TSH。建议对服用稳定剂量L-T4的患者每年查一次TSH。检测TSH的最适时间是不受每日服用L-T4的影响(133)。然而,当使用FT4作为治疗终点时,检测FT4当日不要给药,因为口服L-T4后至少9h内,血清FT4水平会比基础值显著地升高(~13%)(225)。

L-T4最好饭前服用;每日同一时间服用,至少间隔4h后服用其它药物或维生素。很多药物能影响T4的吸收和代谢(特别是考来烯胺(消胆安)、硫酸亚铁、大豆蛋白、硫糖铝(胃溃宁)、含氢氧化铝的抗酸剂、抗惊厥药物或利福平)(4,226)。

3.3.4.4 L-T4抑制治疗

考虑到促甲状腺激素对高分化甲状腺癌患者是一种滋养因子, 对这类患者设计了给予L-T4以抑制血清TSH水平降到正常值以下(227)。曾经从非对照的回顾性研究以确定L-T4抑制治疗的效益, 结果是相互矛盾的(228,229)。

重要的是: 通过权衡患者的各种因素: 如年龄、临床情况, 包括心脏因素和分化型甲状腺癌的复发危险、以及由于医源性轻度(亚临床)甲亢对心脏和骨骼的潜在不良作用, 来个体化确定TSH抑制程度(36)。许多临床医生将低危患者血清TSH的治疗靶值定为0.05-0.1 mIU/L, 而对于高危患者定为TSH<0.01 mIU/L。一些临床医师对于甲状腺切除术后5-10年无复发, 同时血清中查不到Tg的患者, 减少L-T4剂量使TSH处于正常低值。一般认为抑制治疗对于非地方性甲状腺肿是无效的(230)。另外, 结节性甲状腺肿的患者由于甲状腺的自主性往往已经将TSH抑制在低水平(213)。

准则 23. L-T4替代疗法治疗原发性甲减

- 治疗甲减的长期替代治疗的首选药物是L-T4, 不是甲状腺干粉。
- L-T4平均剂量1.6μg/kgbw/day常可使甲状腺功能正常。开始剂量和达到完全替代的时间应该根据年龄、体重和心脏情况而个体化。一般L-T4初始剂量为每日50-100μg。服药6周后根据血清TSH水平调整药量, 增幅为25-50μg。
- 儿童由于其代谢较快, 需要更高L-T4剂量, 最高达4.0μg/kgbw/day(4.0微克每天每公斤体重)。应该用年龄特定和方法特定的参考值区间评估血清TSH和FT4的值(表3)。
- 对于原发性甲减患者, 一般认为L-T4替代剂量的最适治疗靶值是血清TSH水平在0.5 - 2.0 mIU/L之间。
- 针对新的甲状腺素状态, TSH缓慢的再平衡(准则2)。如果调整L-T4的用量或者改换甲状腺制剂的品牌, 需在6-8周后复测血清TSH。
- 间断的L-T4替代治疗或顺应性差会导致血清TSH和FT4值的不协调(高TSH/高FT4), 这是因为甲状腺功能状态持续不稳定(准则2)。对于这些患者必须同时监测血清TSH和FT4。
- 甲状腺素需要量随着年龄增长而降低。年老者需要量可以小于1.0μg/kgbw/day, 可能需要缓慢增量调试。一些临床医师更愿意对这类患者缓慢地增加给药量。对缺血性心脏病患者, 推荐的初始剂量是25μg, 每3-4周增加25μg, 直到完全达到替代治疗剂量。一些临床医师相信, 较高的TSH靶值(0.5-3.0 mIU/L)可能更适合老年患者。
- 对于重度甲减的患者, L-T4初始的负荷剂量是最快恢复FT4治疗水平的方法, 因为体内原先过剩的空余位点会使FT4对治疗的反应迟钝。
- 妊娠期间的甲状腺素需要量增加。在妊娠期间每3个月要用TSH加FT4检查甲状腺状态。应加大L-T4剂量(一般增加为每日50μg)将TSH维持在0.5 - 2.0 mIU/L之间, 血清FT4水平维持在正常参考值区间的上1/3。
- 绝经后开始进行雌激素替代治疗的女性可能需要增加L-T4量, 以维持血清TSH在治疗靶值范围内。
- 当患者接受稳定的L-T4治疗时, 建议按年度检测TSH。理想的检测TSH时间不受每日服用L-T4时间的影响。
- L-T4最好在饭前服用; 每日同一时间服用, 在间隔4h内不要服用其它任何药物包括维生素。睡前服药应在最后一餐2h后。
- 患者如长期接受影响L-T4吸收的考来烯胺(消胆安)、硫酸亚铁、大豆蛋白、硫糖铝(胃溃宁)、含氢氧化铝的抗酸剂等药物治疗时, 可能需要较大L-T4量以使TSH维持在治疗靶值范围内。
- 服用会影响L-T4代谢的利福平或者抗惊厥药物的患者, 也可能需要加大L-T4量以使TSH维持在治疗靶值范围内。

准则24. L- 甲状腺素 (L-T4) 抑制疗法

- 血清TSH被认为是分化型甲状腺癌 (DTC) 的生长因子。用来抑制DTC患者血清TSH的典型L-T4剂量是 $2.1\mu\text{g/kg bw/day}$ 。
- 用L-T4抑制疗法治疗DTC患者的血清TSH靶值浓度应该个体化, 要和患者的年龄、临床状态, 包括心脏因素和DTC复发危险相关联。
- 许多临床医生对低危患者用血清TSH $0.05\text{--}0.1\text{ mIU/L}$ 为治疗靶值, 对高危患者用TSH $<0.01\text{ mIU/L}$ 。(编者注: 这个说法不正确, 因为药物过量会引起药物甲亢, 应该控制在 $0.05\text{--}0.02\text{ mIU/L}$ 之间)。
- 对检测不到血清Tg并在甲状腺切除术后5-10年没有复发的患者, 一些临床医师使用正常范围低值的TSH 为治疗靶值。
- 如果碘摄入充足, L-T4抑制疗法对于缩小甲状腺肿块不是一种有效的治疗方法。
- 随着时间的推移, 多结节甲状腺肿会发展为其自主性, 其特征是低于正常的血清TSH水平。在用L-T4抑制疗法治疗这些患者之前应该检测血清TSH。

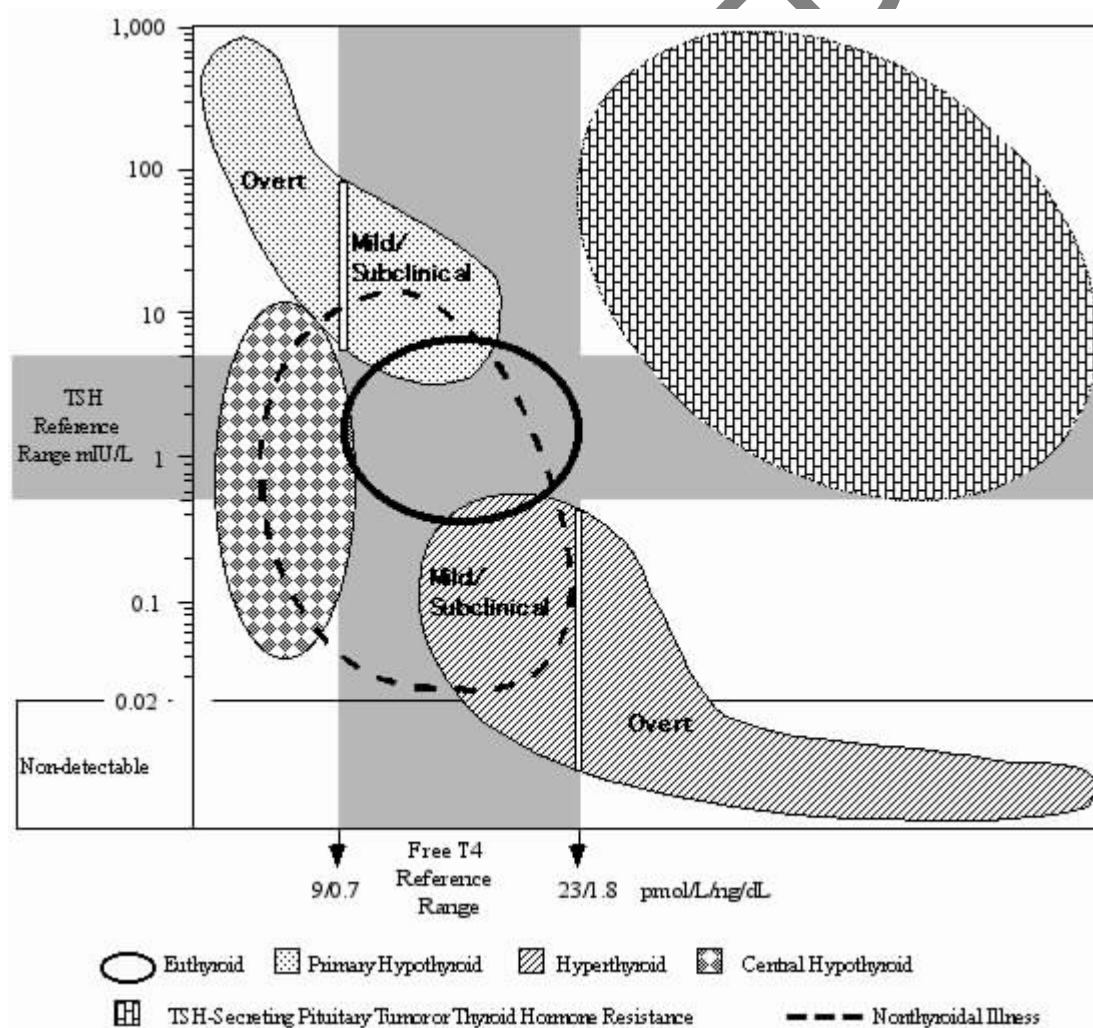


图4. 不同临床情况的典型血清TSH/FT4关系



3.3.4.5 NTI住院患者的血清TSH检测

大多数NTI住院患者血清TSH浓度正常, 通常见到TSH会表现在0.02-20mIU/L范围内的一过性异常, 但他们并无甲状腺功能紊乱(20,87,92,93)。有人建议扩大TSH参考值区间(0.02-10mIU/L)将会改善TSH阳性预测值对住院患者的评估(20,92,93,231)。应将TSH同时结合FT4估值试验(或TT4)来评估有甲状腺功能紊乱临床症状或有病史的住院患者(准则6和准则25)。

有时引起住院患者TSH异常的原因很明显, 如进行多巴胺和糖皮质激素治疗的病例(87,92)。其他病例, TSH异常是一过性的, 是由NTI自身引起, 并随着康复而消退。疾病急性期经常可以发现TSH一过性的轻微抑制到0.02-0.2mIU/L范围, 在恢复期随着反弹, TSH值轻微升高。重要的是, 医院要采用功能灵敏度 ≤ 0.02 mIU/L的TSH方法, 才能可靠地确定TSH受抑制的程度。能使用TSH受抑制的程度来特异地从轻度一过性受抑制的NTI患者区分出患病的甲亢患者, 后者血清TSH值显著地降低(<0.02 mIU/L)(20)。

准则25. 住院患者的TSH检测

- TSH加T4 (FT4或TT4) 是最有用的组合试验, 可查出住院患者是否有甲状腺功能紊乱。
- 在住院条件下更适合应用扩大范围的TSH参考值区间(0.05-10.0mIU/L)。在疾病急性期血清TSH水平短暂降低而在恢复期上升。
- 血清TSH值在0.05-10.0 mIU/L范围内通常被认为甲状腺功能正常, 或者仅有轻微甲状腺功能异常, 应在疾病消退后重新测定后再评估。(这仅适用于没有接受过直接抑制垂体TSH分泌的药物, 如多巴胺的患者。)
- 在低TT4和低TT3值的情况下, 正常低值TSH可能是长期重病引起中枢性甲减的结果; 这种情况是否需要及时治疗仍然不明确, 并且现在仍有争议。
- 当怀疑甲状腺功能紊乱时, TPOAb试验可能对从NTI鉴别出自身免疫性甲状腺疾病有用。

诊断NTI患者是否患有甲亢是个难题, 因为现行的FT4方法能对甲状腺功能正常的NTI患者给出不协调的偏高和偏低值(101,232)。如果是评估疾病的严重程度, 血清TT4和TT3的测定也许对确认甲亢的诊断有用(准则6)。与门诊患者相比, 低于0.02mIU/L的血清TSH对住院患者诊断甲亢的特异性差。一项研究发现: 14%的TSH <0.005 mIU/L住院患者甲状腺功能正常。这些患者TSH对TRH刺激试验都有反应, 而真正患有甲亢的NTI患者却无(20)。

因为NTI患者常伴有TSH异常偏高, 所以在住院治疗期间很难诊断轻度(亚临床)甲减患者(101,232)。如果甲状腺激素(FT4或TT4)水平在正常值范围, 缘自轻度(亚临床)甲状腺病症的血清TSH的任何微小异常(0.02-20.0mIU/L)看来不会影响住院患者的预后, 可以推迟到出院后2-3个月再进行评估。反之, 其他疾病的甲减患者常常同时表现出低FT4和高TSH(>20 mIU/L)(92)。

3.3.4.6 中枢性甲减

TSH和FT4的对数/线性反比关系表明决定了原发性甲减和FT4低于正常的患者应该有血清TSH值 >10 mIU/L(图1)(见2.1.1)。当低甲状腺激素水平负反馈的TSH升高程度不协调反而偏低时, 要排除垂体功能不全。运用“TSH第一”的策略往往错误地忽略了中枢性甲减的诊断(19)。

准则 26. L-T4替代疗法治疗中枢性甲减

- L-T4替代疗法治疗由于垂体或下丘脑功能障碍引起的中枢性甲减时, 其治疗靶值使血清FT4浓度在参考值区间的上1/3。
- 当FT4作为治疗中枢性甲减的终点时, 在测定FT4的当天时要停用L-T4每日剂量。(血清FT4在L-T4口服后 9h内比基础值要高 (~13%))。

中枢性甲减的特征是在多数病例中血清TSH呈反常性的正常或轻微升高 (29)。在一个中枢性甲减研究中, 35%的患者TSH值低于正常, 但41%和25%的患者TSH值分别为反常的正常和升高 (233)。现在证实, 在中枢性甲减情况下, 血清TSH的反常升高是由于测到了无生物活性的TSH异构体, 在垂体遭到破坏或下丘脑TRH的刺激有缺陷时会分泌出这类无生物活性的TSH亚型 (197)。不协调的TSH值升高是因为现行TSH方法中单克隆抗体不能区分不同生物活性的TSH异构体, 因为TSH生物活性不是由蛋白质骨架决定的, 而是由TSH分子糖基化程度, 尤其是唾液酸化程度决定的。看来正常TRH的分泌对TSH正常唾液酸化以及结合TSH亚单位形成成熟的、有生物活性的TSH分子是至关重要的 (29,197,234)。在中枢性甲减, TSH生物学活性看来与TSH唾液酸化的程度以及循环中FT4水平成反比 (29)。TRH激发试验可特定地用于诊断中枢性甲减 (235)。在中枢性甲减, 典型的TSH反应通常变得迟钝 (上升<2倍/或绝对增加值<4.0mIU/L), 而且可能反应滞后 (197,204,235,236)。此外, T3对于TRH激发TSH的反应也表现迟钝, 并与TSH的生物活性相关 (197,237, 238)。

准则27. TSH测定的临床应用 (功能灵敏度≤0.02mIU/L)

- 血清TSH测定是诊断门诊患者患有轻度 (亚临床) 和明显原发性甲减或甲亢最敏感的诊断试验。
- 大多数甲状腺功能正常的健康受试者(>95%)血清TSH浓度低于2.5mIU/L。
- 门诊患者血清TSH超过2.5mIU/L, 并在3-4周后重复检测而确认, 很可能是甲状腺功能衰竭的早期, 尤其是如能查到TPOAb阳性。
- 血清TSH是原发性甲减患者逐步调整L-T4替代剂量的治疗终点 (准则23), 也用于监测L-T4对分化型甲状腺癌的抑制疗法 (见准则24)。
- 对于没有接受多巴胺治疗的NTI住院患者的诊断, 血清TSH检测的可靠性比FT4大。应该将血清TSH与T4 (TT4或FT4) 联合来检测住院患者 (准则6和26)。
- TSH测定不能用于诊断中枢性甲减, 因为现行的TSH检测包括了无生物活性的TSH异构体。
- 中枢性甲减的特征是血清TSH浓度反常的正常或轻微升高, 以及对TRH反应迟钝 (上升<2倍/或绝对增加值≤4.0mIU/L)。
- 当血清FT4降低而血清TSH只有轻微升高 (<10mIU/L) 时, 应考虑中枢性甲减的诊断。
- 血清TSH检测是分娩前和妊娠第一个3月期的重要筛查试验, 用以检测母亲是否存在轻度(亚临床)甲减 (准则4)。
- 多结节甲状腺肿患者的低TSH提示存在由于甲状腺自主性引起的轻度 (亚临床) 甲亢。
- 需要检测血清TSH来证实甲状腺激素水平的升高是因为甲亢, 而不是甲状腺激素结合蛋白的异常(如FDH)。
- 血清TSH测定是查出胺碘酮诱发的甲状腺功能紊乱的主要试验 (准则5)。



3.3.4.7 不恰当TSH分泌异常综合征

如表1所示, 结合蛋白的异常或检测的技术问题, 是造成TSH/FT4关系失调的最常见原因。高浓度的甲状腺激素和未被抑制的血清TSH之间的明显反常分离, 导致广泛使用“不恰当TSH分泌异常综合征”这一术语来描述这种情况。由于广泛使用了灵敏的能查出低于正常的TSH浓度的TSH试验, 现在越来越多地识别出TSH/FT4关系失调的样本(见3.3.2)。如表1所示, 首先应该排除可能造成TSH/FT4比值失调的原因, 如技术性的干扰和/或结合蛋白异常。应该用不同制造商的方法对一个新鲜样本进行TSH、游离和总甲状腺激素测定来进行确认检验。只有在排除了常见的造成失调的原因后才会考虑到罕见的情况, 如TSH分泌性垂体瘤或对甲状腺激素产生抵抗。

当证实有异常生物化学检测轮廓图象时, 在诊断甲状腺激素抵抗 (THR) 之前, 首先应排除TSH分泌性垂体瘤造成反常TSH的可能性。应该注意这两种情况可能同时共存 (247)。TSH分泌性垂体肿瘤具有与THR (甲状腺激素抵抗) 相似的生物化学检测轮廓图象, 但可以通过TSH- α 亚单位检测和放射成像与THR鉴别。此外, TRH激发试验偶尔可能对鉴别诊断有用。许多TSH分泌性垂体瘤对TRH激发试验和T3抑制试验表现迟钝, 而绝大多数THR (甲状腺激素抵抗) 病例反应正常 (245)。

(i) TSH-分泌性垂体瘤

垂体肿瘤过度分泌TSH十分罕见, 占不恰当TSH分泌异常综合征病例的不到1% (27,28)。这些肿瘤通常表现为有甲亢症状的巨大腺瘤并伴有未被抑制的血清TSH、以及磁共振成像(MRI)证实有垂体肿块 (28)。

在排除了TSH浓度反常升高的技术原因 (如HAMA) 后, 诊断TSH-分泌性垂体肿瘤通常基于以下几点:

- 1) 缺乏TSH对TRH刺激的反应
- 2) 血清TSH- α 亚单位值升高
- 3) α 亚单位/TSH比值升高
- 4) 磁共振成像(MRI)显示有垂体肿块

准则28. 对制造商: TSH检测产品的规定

- 敦促销售不同灵敏度TSH试验的制造商, 必须立即停售灵敏度差的产品。
- 没有理由根据灵敏度来对TSH检测试验进行定价!
- 没有科学理由将灵敏度低的试验结果机械性人为地转为灵敏度高的试验结果。
- 有要求时, 通过提供合适的低TSH人血清库, 制造商应该帮助实验室独立地建立自己的功能灵敏度。
- 制造商应指明如何使用校准因子, 尤其是这些校准因子与国家有关。
- 制造商应该提供: 在声称的功能灵敏度之处, 对TSH参比物质制品的回收率数据。
- 试剂盒包装说明书应该:
 - 用文字表明运用了准则20的方法得到的真实的功能灵敏度(提交数据)证明
 - 引述能达到功能灵敏度的一系列具体的临床实验室。
 - 展示临床实验室期望的典型的批间精密性
 - 建议使用功能灵敏度而不是用分析灵敏度来决定最低报告限值。(分析灵敏度会促使实验室采用不真实的检测限值。)



(ii) 甲状腺激素抵抗

甲状腺激素抵抗 (THR) 通常是由于甲状腺激素受体 (TR), 即TR- β 受体基因突变引起, 在存活婴儿中的发生机会为1:50,000 (239,242)。虽然临床表现各异, 患者都有相似的生物化学检测图谱。血清FT4和FT3特定地升高 (从轻度升高到正常上限值的2-3倍), 并伴有对TRH刺激的TSH反应正常或轻微升高 (242,243)。但是, 应该认识到TSH分泌不是不恰当的, 只是组织对甲状腺激素的反应减弱, 需要更高浓度的甲状腺激素来维持正常的代谢状态。THR患者通常有甲状腺肿, 这是由于长期大量分泌TSH杂合异构体, 导致生物活性增加 (199,244) 甲状腺激素过多有很多临床表现。一些患者表现为代谢正常和血清TSH接近正常, 通过高水平的甲状腺激素来补偿受体的缺陷(统称的THR)。其他患者表现为代谢亢进, 并有选择性地累及垂体的缺陷 (垂体THR)。

THR的显著特征是: 尽管甲状腺激素水平升高, 但TSH不受抑制, 以及对TRH反应是适当的 (242,245)。虽然罕见, 重要的是, 在遇到甲状腺激素升高伴有TSH反而正常或升高时, 应该想到THR的诊断 (242,246)。这些患者常被误诊为甲亢, 并遭受不恰当的甲状腺手术或放射性碘腺体消融术照射 (242)。

ARCHIVED

3.4 甲状腺自身抗体(TPOAb, TgAb和TRAb)

自身免疫甲状腺疾病(AITD)通过体液及细胞介导的机制,引起细胞损伤和甲状腺腺体功能改变。当致敏的T淋巴细胞和/或自身抗体与甲状腺细胞膜相结合,引起细胞溶解和炎症反应时,发生了细胞损伤。通过激活或阻断自身抗体对细胞膜受体的作用,引起甲状腺功能的改变。有三类涉及到自身免疫甲状腺疾病的主要甲状腺自身抗原。它们是甲状腺过氧化物酶(TPO)、甲状腺球蛋白(Tg)和TSH受体。还描述了其他自身抗原,例如钠碘同向转运体(NIS),但尚未确定它在甲状腺自身免疫中的诊断作用(248)。TSH受体自身抗体(TRAb)具有异质性,它既可能在Graves病仿效TSH的作用引起甲亢,或者也可能拮抗TSH的作用引起甲减。后者特别多见于患AITD而携带抗体母亲所产下的新生儿。TPO抗体(TPOAb)参与了在桥本甲状腺炎和萎缩性甲状腺炎发生甲减时有关的组织破坏过程。TPOAb的出现经常早于甲状腺功能发生紊乱。一些研究认为TPOAb可能对甲状腺有细胞毒性作用(249,250)。TgAb的病理作用仍不清楚。在富碘地区,TgAb主要是作为血清Tg检测的辅助检查,因为TgAb会干扰Tg的定量检测方法[见3.5.6]。在缺碘地区,血清TgAb的测定对于查出结节性甲状腺肿患者是否患有自身免疫甲状腺疾病,以及监测地方性甲状腺肿的碘治疗都可能有用。

目前尚无确定自身免疫过程中细胞介导作用的实验室试验。但是大多数临床实验室都有评估体液免疫应答的一些试验,如甲状腺自身抗体。可惜的是,下面讨论的技术问题限制了甲状腺自身抗体试验用于诊断及预后。虽然自身抗体检测在一些临床情况中有其固有的临床用处,但是还是应该有选择地应用。

3.4.1 甲状腺自身抗体的临床意义

TPOAb和/或TgAb经常出现于AITD患者的血清中(251)。但是,偶尔也有些AITD患者出现甲状腺自身抗体试验阴性的结果。TRAb存在于大多数有Graves病史或目前患病患者中。妊娠期间,由于母亲体内的TRAb可以通过胎盘垂直传播给胎儿,母亲出现TRAb是胎儿或新生儿甲状腺功能紊乱的危险因子(252,253)。在非甲状腺自身免疫疾病的患者,如1型糖尿病和恶性贫血,甲状腺自身抗体的发生率增加(254)。老年人的年龄增加也与甲状腺自身抗体的出现有关(255)。甲状腺功能正常者的低水平甲状腺自身抗体的临床意义仍不得而知(256)。然而,一系列纵向研究表明,TPOAb可能是以后发展为甲状腺功能紊乱的危险因子,包括产后甲状腺炎(PPT)以及由于使用一些治疗制剂而引起的自身免疫并发症(50,257,258)。这些治疗制剂包括用胺碘酮治疗心脏疾病、 α -干扰素治疗慢性丙型肝炎以及锂盐治疗精神障碍疾病(75,259-262)。一般不推荐用甲状腺自身抗体检测来监测AITD的治疗(263)。这一点并不奇怪,因为AITD的治疗是注重结果(甲状腺功能紊乱),而不注重疾病病因(自身免疫)。当然,自身抗体浓度的变化还是经常反映出疾病活动性的改变。

3.4.2 甲状腺抗体试验的命名

用来表示甲状腺自身抗体的名称增多了,特别是TSH受体抗体(LATS、TSI、TBII、TSH-R和TRAb)。在本文件中使用了国际上推荐的名称,TgAb、TPOAb和TRAb。这些名称与实验室方法所识别的特定自身抗原相反应的分子实体(免疫球蛋白)相一致。检测方法的不同可能会引起这些分子实体(免疫球蛋白)的偏倚,如:一些方法可能只检测IgG或IgG加IgM;另一些只检测到TPOAb或对TPO和其他膜自身抗原都反应的抗体;还有些只检测到抑制TSH和/或激活TSH受体的抗体TRAb。

3.4.3 甲状腺抗体试验的特异性

特异性问题妨碍了甲状腺自身抗体检测的应用。研究表明, 检测结果很大程度受所用的方法的影响。这是由于检测方法在灵敏性和特异性上的差异以及缺乏适当的标准化而造成的。在过去的几年, 分子水平的研究已经显示, 通过与“构象”结构区或表位的(抗原决定簇)结合, 自身抗体与其自身靶抗原相作用。术语“构象”是指自身抗体识别的每一个表位都需要有一个特定的三维空间结构。相应地, 测量结果严格依赖于试验中所使用抗原的分子结构。特定表位结构的微小变化可能会引起这一表位靶向抗体的降低或丧失对自身抗原的识别。最近, 在AITD患者的血中查出双特异性的TGPO 抗体, 可以识别Tg和TPO(264)。

准则 29. 甲状腺抗体测定方法在灵敏度和特异性上的差异

- 认识并理解甲状腺抗体试验的结果依赖于方法。
- 甲状腺抗体方法可以识别血清中异质性抗体群中的不同表位(抗原决定簇)。
- 甲状腺抗体检测的差异反映了分析中使用了不同的受体制剂(受体分析), 或不同的细胞(生物分析)。
- 检测结果的差异可能是由于抗原试剂沾染了其他自身抗原。
- 检测结果的差异可能是由于固有的方法设计(如竞争性和非竞争性免疫分析比较)以及所用的信号。
- 检测结果的差异可能是由于使用了不同的二级标准品。

多年来已知: 与异质抗体相比, 自身抗体是直接针对为数甚少的表位(抗原决定簇)。目前方法对表位的识别大有差别。由于错误识别了某一表位引起特异性的差异, 导致所测自身抗体群出现偏差。即使方法用相同的国际参比制品进行标准化, 还是导致参考值区间有很大差异。不论是什么类别的靶向自身抗原, 甲状腺自身抗体显然不是唯一的独特分子类别, 而是免疫球蛋白混合物, 它们仅有共同与Tg、TPO 或TSH受体相互作用的能力。

不同甲状腺自身抗体试验灵敏度的差异, 可能源自方法设计(如竞争性RIA与双位点IMA相比)以及信号所用的物理方法(如放射性同位素与化学发光相比)。特异性的差异可能是由于自身抗原试剂污染了其他自身抗原(如甲状腺微粒体与纯化TPO相比)。而且, 对表位的错误识别也可能导致低估现有的循环自身抗体总量, 从而降低灵敏度。

准则 30. 甲状腺抗体试验的功能灵敏度

评估甲状腺抗体试验的功能灵敏度, 应该:

- 用含有低浓度自身抗体的人血清库(多人血清基质)来确定**功能灵敏度**。
- 采用与TSH相同的方案(准则20)来确定, 但应在6-12个月期间进行批间精密度的评估, 这代表了一个合适的临床评估时段。

应该用含低浓度自身抗体的血清库来测定功能灵敏度。功能灵敏度方案应与TSH方案(准则20)相同。用于监测TgAb阳性DTC患者的TgAb试验的批间精密度应该横跨较长的时段(6到12个月), 与临床实际使用系列监检时间相一致。

3.4.4 甲状腺抗体试验的标准化

目前尚未达到最佳的甲状腺自身抗体试验的标准化。可以从英国伦敦的国家生物学标准与控制委员会(www.mrc.ac.uk)获得国际参比制剂, TgAb为MRC65/93, TPOAb为MRC66/387。这些制剂是从自身免疫甲状腺疾病的患者血清库中制备, 在35年前就已经制备和冷冻干燥!

准则 31. 对制造商: 如何进行甲状腺抗体方法标准化

- 分析方法应该对照MRC国际参比制品进行标准化:
MRC65/93为TgAb、MRC66/387为TPOAb 以及MRC90/672为TRAb
- 应该制备新的TgAb 和TPOAb国际参比制品。
- 应对二级标准品特征进行全面的鉴定, 以避免不同方法间的偏倚。
- 只要能得到, 应该采用参比制品或重组抗原制剂。

众所周知冻干的抗体过期后降解。降解的抗体会引起参考制品易于和临床来源不明但较稳定的抗体相结合, 从而出现偏差。由于这些参考制品数量稀少, 所以只能作为校准分析方法的一级标准品。商业试剂盒所含的二级标准品随不同方法而异。目前方法的校准品随着检测条件和生产厂家所使用的抗原制品而不同。在检测患者样本中异质性抗体时, 会引起另外的偏倚。就TRAb而言, 已有较新的参考制品MRC90/672(1990), 但目前还没有几个制造商使用。

3.4.5 TPOAb 检测

甲状腺过氧化物酶 (TPO) 是一种110 kD 的膜结合血-糖蛋白。它有一个大的细胞外结构区和一段短的跨膜和细胞内结构区。TPO参与滤泡细胞顶端的甲状腺激素合成。文献已经描述与TPO RNA差异剪接(differential splicing)相关的多种异构体。TPO分子还可在三维空间结构、糖基化程度以及亚铁血红素的结合各方面出现差异。大多数TPO分子并不到达胞膜顶端, 就在细胞内降解。

准则 32. 首选的TPOAb方法学

- 采用高纯度天然或重组人类TPO制剂作为抗原, 灵敏而又特异的TPOAb免疫方法应该取代旧的、不灵敏的、半定量的抗微粒体抗体 (AMA) 凝集试验。
(一致同意水平为90%)
- 低TPOAb浓度的临床意义需要更多的研究。

由于发现TPO自身抗体能与甲状腺细胞膜的粗制品起反应, 最初将TPO自身抗体叙述为抗微粒体自身抗体(AMA)。后来识别到微粒体抗原就是TPO(265)。除了采用更新、更灵敏的竞争性和非竞争性TPOAb免疫分析外, 目前仍在使用旧的AMA免疫荧光分析以及被动鞣红细胞凝集试验。这些新的免疫检测正在取代老的AMA凝集试验, 因为新免疫法是定量的, 更灵敏而且容易自动化。但是这些新的TPOAb测定方法在灵敏性和特异性上仍有很大差异。有一些差异根植于不同分析试剂盒中所使用的TPO制品的不同。当从人甲状腺组织提取时, TPO可以是膜的粗制品, 也可以经过不同方法纯化。分析特异性差异还可能因为被其它甲状腺抗原污染, 引人注意的是Tg, 和/或TPO三维空间结构的差异。使用重组人TPO(rhTPO)可以排除污染的风险, 但还是不能解决因分离TPO技术而出现TPO结构差异的问题。目前大多数TPOAb检测是用参比制品MRC66/387按国际单位进行定量测定。遗憾的是, 即使采用了这类一级标准品也不减少方法间的差异, 证明这点是不同试剂盒制造商在声称的灵敏度上存在着广泛的差异 (范围在<0.3 - <20 KIU/L), 而且正常参考值区间也有差异。

3.4.5.1 TPOAb发生的普遍程度和参考值区间

估测TPOAb发生的普遍程度取决于所用方法的灵敏性和特异性相关。最近美国国家健康和营养普查(NHANESIII)对~17,000例无明显甲状腺疾病对象进行调查后报道:用竞争性免疫检测方法,12%的调查对象测到TPOAb(18)。在健康人群和/或非甲状腺自身免疫疾病的患者中,可以测到低水平的TPOAb,仍不清楚这是否反映了正常的生理状态、或AITD前驱症状,还是测定特异性的问题。

TPOAb检测的正常参考值差异很大,而且往往是人为制定的,以使大部分AITD患者试验结果为阳性,大部分没有AITD临床证据者试验结果呈阴性。正常低值可能与技术因素相关。确切地说,采用低检测限(<10kIU/L)的方法在仔细选择的正常人员中,典型地报告测不到TPOAb。此类方法提出有TPOAb就是病理表现。与之相反,采用较高检测限(>10kIU/L)的TPOAb方法通常提出TPOAb有“正常参考范围”。由于这类方法并未增加查出AITD的灵敏度,因而这些“正常范围”值可能只代表了非特异分析的“噪音”,并无病理学意义。

最近20年来,Whickham小组随访研究中发现:可测到的TPOAb滴度(AMA检测)不仅是甲减的危险因子,可测到的AMA还预示着会发展为TSH升高(图5)(35)。这表明可检测到的TPOAb是AITD的危险因子(准则34)。然而,低TPOAb水平的个体可能用这项研究中的旧方法检测不到AMA(35)。AMA凝集方法无法检测到的低水平TPOAb的临床意义,仍需要通过一系列纵向研究来确定。这样,只有通过对这些个体长期随访研究后,表明他们并无发展为甲状腺功能紊乱的风险,才能认为因低水平的TPOAb和/或TgAb而存疑的个体是正常的。

准则 33. 甲状腺抗体试验的参考值区间

应该测定120名无任何甲状腺病史的“正常”受试者而确定甲状腺抗体检测的参考值区间:受试者的选择应尽可能减少易患自身免疫甲状腺疾病患者人员的混入。正常的对象应该是:

- 男性
- 青年(< 30 岁)
- 血清TSH 水平在0.5-和2.0 mIU/L之间
- 无甲状腺肿
- 无个人或家族甲状腺疾病史
- 无非甲状腺自身免疫疾病(如狼疮或糖尿病)

选择作为正常组来确定自身抗体正常参考范围的对象标准是十分严格的。这样一个群体应该是由年轻、生化上甲状腺功能正常(TSH 0.5 - 2.0 mIU/L)、无甲状腺肿和无AITD家族史的男性组成。从这个严格的选择过程看来,可将混入易患AITD倾向的人员减到最小。

3.4.5.2 TPOAb 测定的临床应用

TPOAb是查出自身免疫甲状腺疾病最敏感的试验(266)。如图5所示机制,在桥本甲状腺炎继发甲减的过程中,TPOAb是典型地首先出现的异常。事实上,当用敏感的免疫分析测定TPOAb时,95%以上的患桥本甲状腺炎者中可检测到TPOAb。这些方法也同样在大多数(~85%)Graves病患者检测到TPOAb(254)。在怀孕早期,查到TPOAb的患者是发生产后甲状腺炎的危险因子(50)。唐氏综合征患者由于自身免疫甲状腺疾病,增加了甲状腺功能紊乱的风险,每年筛查TSH和TPOAb是重要的(267,268)。

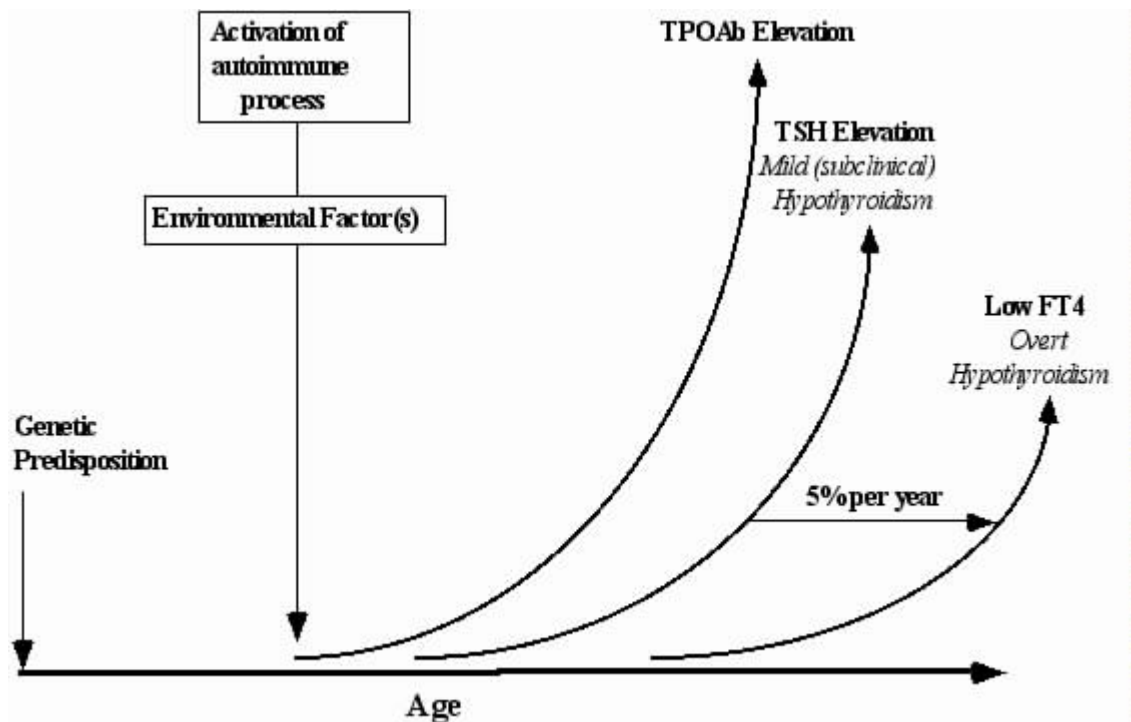


图5. TPOAb 随自身免疫甲状腺疾病的进展而改变

最近报道指出:妊娠期体内TSH升高和/或可检测到TPOAb的母亲,可能会损伤出生儿童的智商(IQ)(63-65)。这个报道已促成建议:所有孕妇在妊娠前3个月都应该检测TSH和TPOAb水平[见2.1.3和准则4]。此外,TPOAb测定对于不孕症也可能有用,因为高TPOAb常与流产和体外受精受孕失败的高风险相联系(269)。

准则 34. 建议 TPOAb检测用于:

- 诊断自身免疫甲状腺疾病
- 自身免疫性甲状腺疾病的危险因素
- 在 α -干扰素、白介素-2(IL-2)或锂治疗期间,发生甲减的危险因子
- 胺碘酮治疗时,甲状腺功能紊乱的危险因子(准则5)
- 唐氏综合征患者的甲减危险因子
- 妊娠期间的甲状腺功能紊乱和产后甲状腺炎的危险因子
- 流产和体外受精受孕失败的危险因子

已确定当患者接受锂盐、胺碘酮、IL-2或 α -干扰素治疗时,出现TPOAb是甲状腺功能紊乱的危险因子(75,259,260, 261,270)。在 α -干扰素治疗期时,先前存在的甲状腺自身免疫病或阳性TPOAb是发展成甲状腺疾病的前驱因素(262)。但是这些表现,并未增加 β -干扰素治疗期间出现甲状腺功能紊乱的频率(271)。治疗前存在TPOAb对发生甲状腺功能紊乱的灵敏度为20%,特异性为95%,阳性预测值为66.6% (272)。



3.4.6 甲状腺球蛋白自身抗体 (TgAb) 检测

甲状腺球蛋白(Tg), 即原甲状腺球蛋白, 是可溶性高分子(660kDa)的糖蛋白, 由两个相同的亚基组成。由于转译后修饰差异(糖基化, 碘化, 硫酸化等), Tg具有高度异质性。在甲状腺激素合成和释放过程中, Tg被聚合和降解。结果, Tg的免疫结构极为复杂。Tg制品的特性可以因为初始提取的人甲状腺组织和纯化的过程而广泛不同。这是解释为何TgAb检测以及Tg检测[见3.5.2]非常难以标准化的首要原因。

3.4.6.1 TgAb方法学

如同TPOAb测定方法一样, TgAb测定方法的渐进发展, 是从甲状腺组织切片的免疫荧光法, 到被动凝集红细胞凝集法, 再到近期的竞争和非竞争性免疫分析。技术的进步提高了血清TgAb测定的灵敏性和特异性。然而, 由于临床实验室目前同时运用新、老方法, 不同实验室所采用的方法在灵敏性和特异性上存在广泛差别, 因实验室而异。一般使用从多患者血清库或志愿供血者血清获得的纯化或者粗制的TgAb对检测进行校准。这些不同的二级标准品常常, 但不是所有, 对照一级标准品MRC65/93校准。但是, 用MRC65/93标化并不能确保不同方法在定量和定性上一致。方法差异的其他原因与TgAb本身的异质性相关联。与其他甲状腺疾病如分化型甲状腺癌(DTC) TgAb的异质性是狭义限定的相比, 甲状腺自身免疫疾病AITD患者TgAb的异质性较不限定(273)。这反映出不同的自身抗体在表达上有所差异, 健康个体可能正常地只表达很低的水平(274)。血清TgAb值在方法间的差异也可能反映了来自不同甲状腺本体和免疫状况患者的血清样本的TgAb亲和力和表位(抗原决定簇)特异性的性质差异。方法间差异的另一个原因是由于所设计的方法易受高水平循环抗原(Tg)的干扰, 如常见于Graves病和转移性DTC(275)。

准则 35. 对制造商: 开发TgAb方法

- TgAb方法的抗原表位特异性应该宽广并不限定, 因为与自身免疫甲状腺疾病的患者相比, TgAb阳性的DTC患者的TgAb抗原表位的特异性可能更广。

3.4.6.2 TgAb 发生机率和参考值区间

如同TPO抗体一样, 甲状腺球蛋白抗体的发生机率和正常判断值取决于检测方法的灵敏性和特异性(276)。NHANESIII调查报告: 用竞争性免疫方法测得TgAb发生率出现于占~10%的一般人群中(18)。诊断为DTC患者的TgAb的发生率较高(~20%), 是正常人群的2倍(276)。如同TPOAb一样, 低TgAb水平的临床意义仍不清楚, 用旧的凝集方法检测不到这么低水平的TgAb。有人提出低水平的TgAb可能代表正常个体的“天然”抗体或是作为“清道夫”抗体来应答甲状腺手术或放射性碘治疗后所释放抗原。或者, 低水平TgAb也可能代表无症状隐匿的AITD(256)。正如前章对TPOAb的讨论那样[见3.4.5.1], 不同的TgAb检测方法报告不同的正常阈值。有些TgAb方法认为正常对象的TgAb测定数值也应有分布在分析检测限以下, 而有的方法则只报告存在于“正常范围”内的数值。当TgAb的测定作为血清Tg的辅助检测时, 低水平TgAb与病理生理意义关联不大, 更关联的是低水平的TgAb有可能干扰血清Tg方法。

准则 36. 在非肿瘤情况下的TgAb 检测

- 在富碘地区, 一般无必要同时申请测定TPOAb和TgAb, 成本效益比也不合算, 因为TPOAb阴性而测到TgAb的患者很少会出现甲状腺功能紊乱。
- 在缺碘地区, 血清TgAb的测定对于有结节性甲状腺肿的患者, 查出自身免疫甲状腺疾病可能有用。
- 监测地方性甲状腺肿的碘治疗。

3.4.6.3 TgAb 检测的灵敏度和精密度

灵敏的TgAb定量测定是血清Tg测定的一个重要的辅助试验。定性凝集试验不够敏感,不足以检测到会干扰血清Tg测定的低浓度TgAb(276)。如同TPOAb分析一样[见3.4.5.1],不同TgAb免疫分析报告的绝对值是高度分歧的,这样就排除了使用不同制造商的试验来连续监测DTC患者。看来有二类TgAb免疫分析。一类特点是测定限低($<10\text{kiU/L}$),检测不到正常参考值范围。这些方法认为出现TgAb就是病理表现。另一类报告较高的测定限($>10\text{kiU/L}$),并列举了TgAb“正常参考值范围”。但这些可检测的“正常值范围”很可能仅仅是代表了非特异性的分析“噪音”,而“噪音”是由于方法的低灵敏度或特异性问题造成的,因为这些低“正常值范围”并无干扰血清中Tg测定的证据[见3.5.6]。

准则 37. 分化型甲状腺癌(DTC)的TgAb 检测

在检测Tg前,应该首先测定所有患者血清中TgAb的浓度。因为低水平的TgAb可干扰血清Tg测定,根据所用Tg方法不同,可得到假性偏低、或无法测到、或假性偏高的结果。

- 每一份送往实验室进行Tg检测的血清样本都应该测定TgAb。
- 对所有TgAb阳性的DTC患者,都应使用同一生产商的方法系列测定血清TgAb,因为系列测定血清TgAb值对于监测DTC治疗的反应具有预后意义。
- TgAb方法应该是免疫分析法而不是凝集法,因为低水平TgAb可干扰大多数方法对血清Tg的测定,连续测定必须是定量的而非定性的。
- 血清Tg回收实验并不能可靠地检测到TgAb,不应该作为检测TgAb的一种方法(准则46)。
- 改变TgAb方法前,实验室应该通知临床医师并评估所提议的新法与老法在数值上的相关性。如果两种方法差异 $>10\%CV$,则应对患者重新划定基准线。

3.4.6.4 TgAb检测的临床应用

临床应用血清TgAb检测来判断是否有甲状腺自身免疫性疾病,目前仍有一些争议。美国NHANESIII研究报道:3%的无甲状腺疾病危险因子的对象可测到TgAb,同时不伴有TPOAb(18)。因为这一组群体并不伴有TSH升高,所以在富碘地区,看来TgAb测定对于AITD不是一个有用的诊断试验(256,279)。然而在缺碘地区,相信TgAb检测对查出AITD是有用的,特别是有结节性甲状腺肿患者。TgAb的检测对地方性甲状腺肿的碘治疗监测也是有用的,因为碘化Tg具有更高的免疫原性。

要求作血清TgAb测定主要用为检测血清Tg时的一项辅助试验。测定DTC患者血清的TgAb有双重临床用途。首先,血清TgAb的灵敏性和特异性对筛查这些癌症患者是十分必要的,因为即使低浓度的抗体也会干扰大多数Tg方法对Tg的检测[见3.5.6](275,276)。其次,对TgAb阳性患者,其Tg检测可能不可靠,而系列检测TgAb可以作为替代的肿瘤标志物的检测(276)。确切地说,DTC根治的TgAb阳性患者典型地一般在1-4年TgAb转阴(276,277,278)。反之,未得根治的患者在治疗后,体内仍可测到TgAb浓度。事实上,TgAb水平升高往往是患者疾病复发的第一个指征(276)。

3.4.7 TSH 受体自身抗体 (TRAb)

TSH受体是以7个跨膜结构区与G蛋白相连的受体超家族中的一员。60kb的TSH受体基因位于染色体14q31长臂上,已检出其序列并克隆(272)。外显子1-9编码对受体细胞外的结构区(397个氨基酸),外显子10编码对跨膜结构(206个氨基酸)。激素受体复合物激活G蛋白,通过腺苷酸环化酶以及磷脂酶转换生成的磷酸肌醇,导致刺激c-AMP生成(280)。抗原位点-指向的诱变证明受体三维结构对于与TSH和/或TRAb的相互作用十分重要。经生物学分析或受体分析可检测出3种广型TRAb(表6)。受体分析,或TSH结合抑制免疫球蛋白(TBII)分析虽不能直接测出生物学活性,但是却可以检测样本中是否含有可以阻断TSH与体外受体制品免疫球蛋白的结合。TSH刺激抗体(TSAb)是与细胞外结构区中的N端组分相结合,并通过诱导受体后信号的转导和细胞刺激来模拟TSH的作用。相反,C-端区对于TSH受体的阻断抗体(缩写为TBAb或TSBAb)更为重要,它阻断TSAb或TSH刺激,引起甲减(281)。甲状腺生长刺激免疫球蛋白(TGI)在这方面的特性还未很好确定。

目前已表明,TRAb水平与患者的临床状态之间缺乏相关性的原因,多半是由于循环TRAb是异质性的。事实上,一个患者体内可同时存在着TRAb的异质性,并总是在变化,这就是为什么难以开发能准确诊断的TRAb试验的一个原因(282,283)。确实,Graves患者体内同时存在TSAb和TBAb/TSBAb,他们的临床表现很大程度上依赖于占主导地位的抗体的相对浓度和亲和力。可以从刺激性的TRAb转为阻断性的TRAb来解释为什么妊娠期间Graves病以及放射性碘诱导一过性甲减的自发缓解(281,284)。重要的是要注意到,使用细胞制品检测TRAb的生物学作用(刺激、抑制TSH活性或生长)的生物学方法,可以检测TRAb异质的功能性转变。相反,许多临床实验室所采用受体分析或TSH结合抑制免疫球蛋白(TBII)分析,仅能测到血清或IgG制品阻断与TSH制品结合的能力,检测不到生物学反应(表6)。方法设计上的根本差异阐明了为何生物分析和受体分析表现很弱的相关性($r = 0.31-0.65$) (283,285)。

3.4.7.1 TRAb方法学

1956年,使用体内生物分析方法,首次报道了不同于TSH而有相对较长半寿期的甲状腺刺激因子(长效甲状腺刺激因子或LATS)(286)。随后,证实LATS是一种免疫球蛋白。如同TSH一样,TRAb可激活甲状腺滤泡细胞的cAMP和磷酸肌醇二种途径,从而分别刺激和阻断甲状腺激素的合成和腺体的生长(283)。

如表6所示,TRAb的测定方法根据其功能活性分类。对小鼠和FRTL-5细胞系,以及人的研究表明,高浓度人绒毛膜促性腺激素(hCG)也是弱的TRAb刺激剂,可以刺激cAMP、碘的转运和细胞生长(56)。极少数绒毛膜上皮癌病例中,继发hCG明显升高会引起TRAb假阳性。但是正常妊娠或者葡萄胎治疗的患者的hCG的升高一般不足以引起TRAb假阳性。

3.4.7.2 生物分析 (TSAb、TBAb/TSBAb和TGI)

目前大多数生物分析的基础是,接触过血清样本或IgG制备的细胞制品(FRTL-5/CHO TSH-R),会使TSH受体激活并生成第二信使(cAMP) (287-289)。最近通过加速开发TSH受体转染细胞系进行了TSH受体克隆,这非常有利于生物分析(290,291)。虽然美国和亚洲的一些商业实验室已经应用了这些生物分析,但是,由于受法规对应用转基因微生物的限制,这些方法在欧洲市场不容易买得到。可惜的是,TRAb生物分析结果和临床表现之间的相关性仍然不好。例如,用TRAb生物分析诊断Graves病的灵敏度范围在62.5% - 81%之间(283)。新的使用了嵌合的方法可以靶向定位促甲状腺激素受体抗体TRAb表位和TSH的结合点,从而提供分析反应和临床结果之间有更好的相关性(281,284,292-294)。

Table 6. TSH 受体抗体 (TRAb) 方法

抗体	功能	检查方法
TSAb	刺激 cAMP 生成、摄碘、和甲状腺球蛋白合成	细胞生物分析 (FRTL-5/ CHO TSH-R) 与正常混合血清相比, 对TSH诱导的 cAMP合成的刺激率%(百分比)
TBAb/TSBAb	抑制TSH诱导cAMP的生成、摄碘、和甲状腺球蛋白合成	细胞生物分析 (与上同) 与正常混合血清相比, 对TSH诱导的cAMP合成的抑制率%(百分比)
TGI	刺激甲状腺细胞生长	FRTL-5-细胞, ³ H胸腺嘧啶摄入/有丝分裂中止测定
TBII	抑制 ¹²⁵ I TSH与受体的结合	受体分析法, 用可溶性的猪TSH-受体或重组人TSH-受体

TSAb: 甲状腺刺激抗体
 TBAb/TSBAb: TSH 受体阻断抗体
 TGI: 甲状腺生长刺激抗体
 TSH-R: TSH受体
 TBII: 甲状腺结合抑制免疫球蛋白

3.4.7.3 受体 (TBII) 分析

已有市售的甲状腺结合抑制免疫球蛋白(TBII)分析, 并应用于许多临床实验室。这些方法定量抑制¹²⁵I标记的TSH与可溶性猪受体的结合, 或最近定量抑制与重组人TSH受体的结合(295 - 297)。这类方法不能区分激活TRAb还是阻断TRAb。TBII活性常根据已与MRC参比血清校准过的TRAb阳性血清来定量。最常使用的校准品是MRC参比血清LAT S-B。最近已经可以得到WHO标准品(MRC90/672)。尽管使用相同标准, 但由于患者血清TRAb固有的异质性和使用受体来源(猪重组的相对于人重组的)不同, 会引起TBII方法间产生广泛的差异(283,298)。虽然现已有以重组人TSH受体为基础的TBII方法并对Graves病诊断有较高的灵敏度, 但是在预测抗甲状腺药物 (ADT) 治疗的反应上, 似乎还不能提供更高的特异性和灵敏性(297,299)。

准则 38. TSH 受体抗体 (TRAb) 试验

临床实验室TRAb分析方法可以是:

- 受体或TSH结合抑制试验 (TBII)虽不能直接检测刺激活性, 但是却能测出血清样本中阻断标记TSH制品和体外TSH受体制品结合的因子。这些试验是临床实验室较常应用的TRAb方法。
- TSH 受体生物分析(TSAb) 利用细胞 (FRTL-5 细胞, 或近来用人TSH受体转染CHO细胞) 来检测甲状腺刺激免疫球蛋白 (TSAb), 它或者激活cAMP 或者 刺激碘摄入。但是这些方法尚不能在所有国家常规使用。
- 总的来说, TSAb和TBII 结果间相关性不佳 (在60%-75%之间)。对于未接受治疗的Graves病甲患者, TSAb 分析声称其阳性率达 80%-100%, TBII分析阳性率在70% - 90% 之间。两种试验对于预言Graves病甲亢的缓解都不具有高特异性和高灵敏性。
- 已知正常hCG和绒毛膜上皮癌生成的异常hCG都会与TSH受体相互作用而引起假阳性结果。这种情况可见于一些罕见的绒癌病例, 但是在正常妊娠或接受治疗的葡萄胎时, 其hCG水平的升高还不足以导致假阳性结果。

3.4.7.4 TRAb 参考值区间

尽管采用了新的国际参比制品MRC90/672, TRAb值仍然是依赖方法的, 参考值区间存在很大的差异, 随所选择的不同“正常”人群而得到不同的确定阳性结果的判断值。这一判断值通常是正常群体均数的两个标准差。

3.4.8 TRAb检测的临床应用

临床上对应用TRAb检测来诊断或随访AITD仍然存在很大争议, 并且因地域不同而异。大多数患者甲亢的鉴别诊断无须借助TRAb检测即可解决。但是, 出现TRAb可以将Graves病和其他表现为甲亢的假性甲状腺毒症鉴别, 如亚急性或产后甲状腺炎和毒性结节性甲状腺肿。

TRAb检测可以作为预测Graves病病程的一种方法。TRAb水平降低常见于抗甲状腺药物(ATD)治疗后临床上有所缓解的甲亢患者。ATD撤药后, 极高水平TRAb相应地预示疾病突然复发, 但这种情况只见于极少数患者。反之, 有相当数量的患者TRAb检测不到或水平很低, 疾病仍会复发。一项评价TRAb水平与复发风险关系的荟萃分析显示: 有25%的患者被TRAb测定错误分类(263)。这些研究提出: ATD治疗撤药后, 不论TRAb水平是什么, 都需随访患者, 为此进行TRAb测定并不符合成本效益原则 (263)。

一般都同意TRAb检测对曾有AITD既往史的孕妇, 可用于预测其胎儿和/或新生儿是否发生甲状腺功能紊乱(8,252)。在妊娠第7-9个月内母体高水平的TRAb对于后代的甲状腺功能紊乱是一种危险因子(8,282)。TRAb水平极高的孕妇有2% - 10%产下的新生儿伴有甲状腺功能紊乱(8)。用抗甲状腺药物成功地治疗了甲亢, 新生儿甲亢的危险极微(8), 但用放射性碘治疗如果TRAb水平居高不下者, 新生儿仍可患甲亢。甲状腺功能正常孕妇(+/- L-T4 治疗), 她们曾用过放射性碘治疗Graves病, 应该在妊娠早期测定TRAb水平, 此时升高的TRAb值对于胎儿甲亢是一个显著的危险因子, 还应该在妊娠第7-9个月时, 测定TRAb水平来评估新生儿甲亢的风险性(8)。接受抗甲状腺药物(ATD)治疗Graves病的孕妇应在妊娠第7-9个月测定TRAb。患者出现高水平TRAb, 应立即对新生儿是否有甲亢进行全面的临床和生化的评估, 时间在出生(脐带血)时, 以及在ATD经胎盘途径作用完全消失的出生后4-7天进行(300)。值得关注的是, TBII受体分析常用于此目的, 因为它既可以检测刺激抗体(TSAb), 也可以在一些罕见的病例中检测到阻断抗体(TBAb/TSBAb), 这些阻断抗体会引起1:180,000新生儿的一过性甲减(301)。也建议同时检测刺激抗体和阻断抗体, 因为抗体作用不同, 在母亲和新生儿中甲状腺功能紊乱的表达可能是不同的 (253)。

准则 39. TRAb 测定的临床应用

- 当诊断在临床上并不清楚时, 可用此调查甲亢的病因。
- 长期抗甲状腺药物治疗时, TRAb浓度下降可提示疾病缓解。但TRAb的检测对25%的这类患者有误导。
- TRAb 对于Graves病患者的诊断以及根据TRAb 值制定治疗方案是有用的。
- 用于诊断疑似“甲状腺功能正常的Graves眼病”患者。但是测不到TRAb, 不能排除这种病症。
- 虽然TSAb 分析在理论上具有优势, 一些人认为既能查出刺激抗体(TSAb) 又能查出罕见病例阻断抗体 (TBAbs/TSBAs)的TBII检测也一样有用。
- 对于有Graves病既往史或现病史的孕妇, 注意: 在曾用抗甲状腺药物治疗Graves病后甲状腺功能已经正常的孕妇, 胎儿或新生儿患甲亢风险甚微。
- 在曾用放射性碘治疗Graves病后甲状腺功能已经正常的孕妇 ($\pm$ L-T₄ 治疗), 应在妊娠早期检测TRAb, 高值是胎儿甲亢的危险因子 (2-10%); 还应在妊娠第7-9个月检测TRAb, 以评价新生儿甲亢的风险。
- 服用抗甲状腺药物(ATD)治疗Graves病并在妊娠期维持甲状腺功能正常的孕妇, 应在妊娠7-9个月时检测TRAb。高TBII值, 应立即对新生儿是否有甲亢进行全面的临床和生化的评估, 在出生(脐带血)时, 以及在ATD经胎盘途径作用完全消失的出生后4-7天进行。
- 当母亲曾因Graves病甲亢接受治疗而甲状腺不完整时, 有必要或阻断TRAb或刺激TRAb检测二者之一, 以评估胎儿或新生儿甲状腺功能紊乱的风险。
- 用来识别由于存在TSH 受体阻断抗体而引起的新生儿一过性甲亢。

准则 40. 需要改进甲状腺抗体试验

- 目前各种甲状腺自身抗体分析方法的必须提交试剂盒, 以便对它们进行分析性能与临床性能的对比研究。
- 对目前使用的抗原制品进行比较研究, 会推动确定出最佳适合临床的甲状腺自身抗体检测的(一些)方法。
- 所有的甲状腺自身抗体分析方法都应写明各自试验中所用抗原制品的特征性。
- 应该制备抗原的参比制品以供索取。

TRAb在甲状腺相关性眼病(TAO)中的作用仍不确定(302)。TAO通过放射性碘治疗而增剧(303)。而且在放射性碘治疗后, TRAb 和其他甲状腺抗体水平显著升高 (304-306)。这表明在放射性碘治疗前测定TRAb可预测TAO的风险。但目前尚未有前瞻性研究证明此观点。

3.4.9 未来的方向

重要的是: 应对商业性的甲状腺自身抗体分析进行组织良好的对比研究。这可提供确凿无疑的证据说明目前的分析方法在性能上存在着差异(296)。也有助于说服临床实验室的科学家避免使用那些临床性能不理想的分析方法, 并促使生产厂家改进他们的产品, 或者将其淘汰出市场。

准则 41. 对生产厂家: 开发甲状腺抗体试验的规定

- 绝对的或"金标准"方法仍是今后努力的目标。
- 试剂盒包装说明书应写明生产抗原试剂方法, 方法的设计以及所有影响抗原抗体相互作用实验条件。
- 应该根据多个患者血清中自身抗体及其特异性抗原之间的相互作用选择二级标准品的特异性。
- 应该用~20份抗体浓度> 1,000 kIU/L的血清和~20份高于10,000 kIU/L的血清来检查TPOAb和TgAb IMAs的弯钩效应。
- 应该将一系列低浓度TgAb血清中添加Tg到浓度>10,000 µg/L (ng/ml)和>100,000 µg/L (ng/ml), 以检查高浓度抗原 (Tg) 对TgAb方法检测的影响。

3.5 甲状腺球蛋白(Tg)

甲状腺球蛋白(Tg)是甲状腺激素合成的前体蛋白, 用灵敏的方法可以在多数正常个体血清中检测到。综合有3种主要因素决定血清Tg的水平: (i)已有的甲状腺分化组织的质量; (ii)甲状腺腺体任何炎症或损伤都会引起Tg释放; (iii)TSH受体(被TSH, hCG或TRAb)激活的数量。升高的血清Tg浓度是甲状腺功能紊乱的非特异性指标。大多数血清Tg升高患者甲状腺状态是良性的。血清Tg检测的主要作用是作为诊断分化型甲状腺癌(DTC)患者的肿瘤标志物。大约2/3DTC患者术前血清Tg水平升高, 这说明这类患者的肿瘤具有分泌Tg的能力, 血清Tg检测可作为术后肿瘤标志物(307)。相反, 当术前血清Tg浓度不高于正常水平, 这说明该肿瘤不具有Tg分泌功能, 术后查不到血清Tg不能使人放心。在这些患者, 如术后检测到血清Tg, 说明肿瘤巨大。一般来说, 术后血清Tg的变化代表着肿瘤质量的改变, 条件是以L-T4治疗维持恒定的TSH水平。

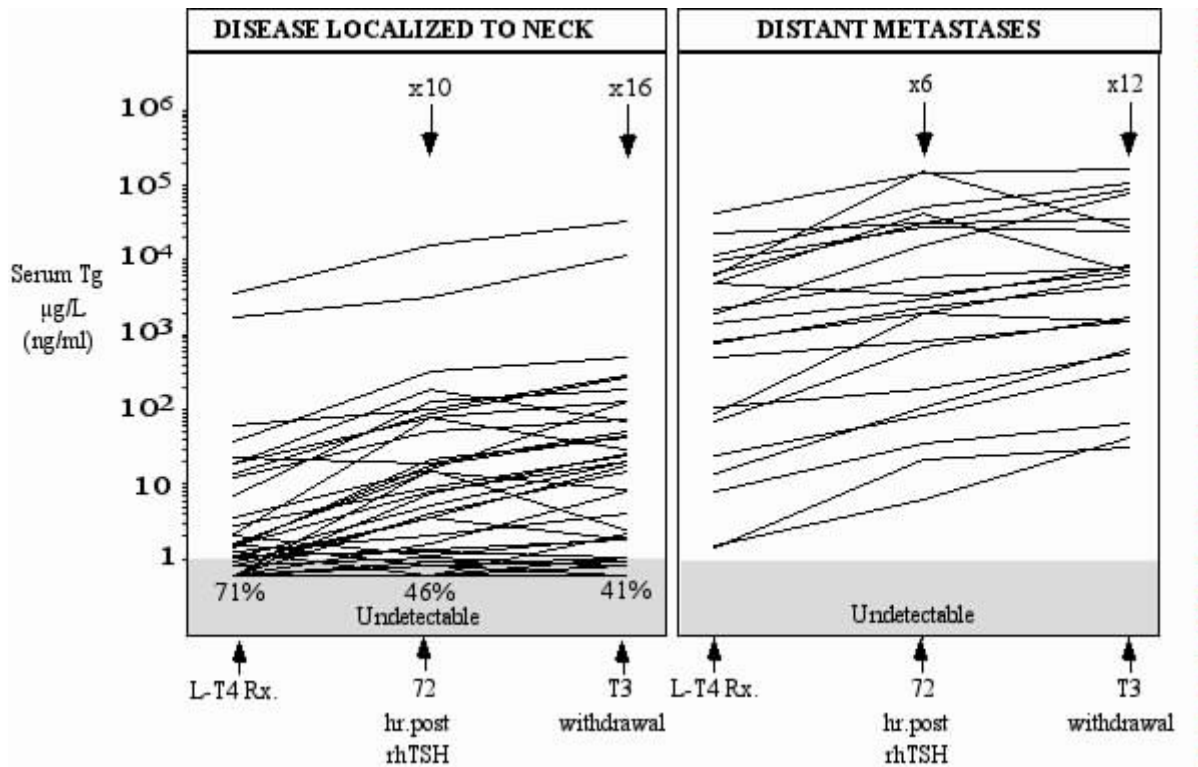


图6. rhTSH给药后或T3撤药后血清Tg的反应. 数据来自 参考文献 308.

在TSH[内源性TSH或重组人TSH(rhTSH)]刺激时, 血清Tg检测对于发现残余的或转移的DTC的灵敏度高于在LT4治疗期间Tg基础值的测定(图6)(308)。对TSH反应的血清Tg值增加的大小是肿瘤对TSH灵敏度的指标。分化程度好的肿瘤出现典型地对高TSH的反应, 激活血清Tg可升高~10倍(309)。分化程度差的肿瘤不能聚碘, 对于TSH的刺激反应迟钝 (310)。

3.5.1 Tg 方法的现状

通常检测血清中甲状腺球蛋白, 但也可检测甲状腺结节细针活检材料和甲状腺囊液中的甲状腺球蛋白(311)。血清Tg的检测在技术上仍有挑战。目前, 免疫测定分析 (IMA) 比放免法 (RIA) 流行。这是因为IMA方法提供了实用优势: 较短的温育时间、扩展的分析范围、更稳定的标记抗体试剂、比RIA不易受到标记的损害(312)。实验室现在可以从同位素 (免疫放射分析, IRMAs) 方法和非同位素 (主要是化学发光测定法, ICMA) 的IMA方法中进行选择。然而, IMA方法更容易受到甲状腺自身抗体(TgAb)的干扰, 从而低估了血清Tg的水平。这就使一些实验室对TgAb-阳性的患者选用RIA方法检测血清Tg, IMA方法只限于TgAb阴性的患者。但是, 没有方法能声称自己可以完全不受TgAb干扰的影响, 这些干扰不是引起TgRIA测定偏高, 就是偏低。除了TgAb干扰的问题外, 目前TgIMA方法还受标准化和特异性差异的影响, 表现为灵敏度差, 批间精密度不佳, 和高剂量的“弯钩”效应(312)。

3.5.1.1 标准化

用RIA或IMA方法测定血清Tg的浓度差异很大(312,313)。在最近由欧共体委员会公共参考局(Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities) 资助的合作努力下已经开发了一种新的国际Tg参比制品, CRM-457 (298,314)。可从 Dr. Christos Profilis, BCR, Rue de la Loi 200, B 1049 Brussels, Belgium获得此物质。

准则 42. 对制造商: 如何开发Tg方法

- 用于标准品的理想的稀释液应该是无Tg/无TgAb的人血清。非血清基质则应选择所产生的信号 (放射性计数, 相对光单位等) 等同于无Tg/无TgAb的人血清, 以避免与基质相关的偏倚。

不同Tg方法产生的偏倚, 可能是由于用来稀释标准品的无Tg基质和患者血清的不同所致; 或者是由于每个制造商使用了不同Tg抗体对表位(抗原决定簇)识别的差异。理想上, 用于标准品的稀释液应该是无Tg/无TgAb的人血清或者是另一类非血清基质, 能产生与无Tg/无TgAb的人血清相同的信号 (放射性计数, 相对光单位等)。重要的是, 实验室在改变方法前必须通知临床医师, 以便对DTC患者重新设立基线。

广泛采用CRM-457标准是为了减少, 但不能消除此检测过程中存在的方法与方法之间的显著差异。原本希望国际标准化能够使文献中不同的研究达成更好的一致, 以及改善用系列Tg检查来监测DTC患者的临床应用, 以应对有时在不同的实验室检测Tg。可惜的是, 使用新的CRM-457标准并没有如原先设想的那样消除方法间的差异。目前, 虽使用了CRM-457标准, 采用不同方法测血清Tg浓度仍有大到4倍之差别(图7)。这些方法与方法间的差异超出了监测个体患者所允许的最大不精密度的目标(表5), 排除了在长期随访甲状腺癌患者时, 交换使用不同的Tg方法之可行性。

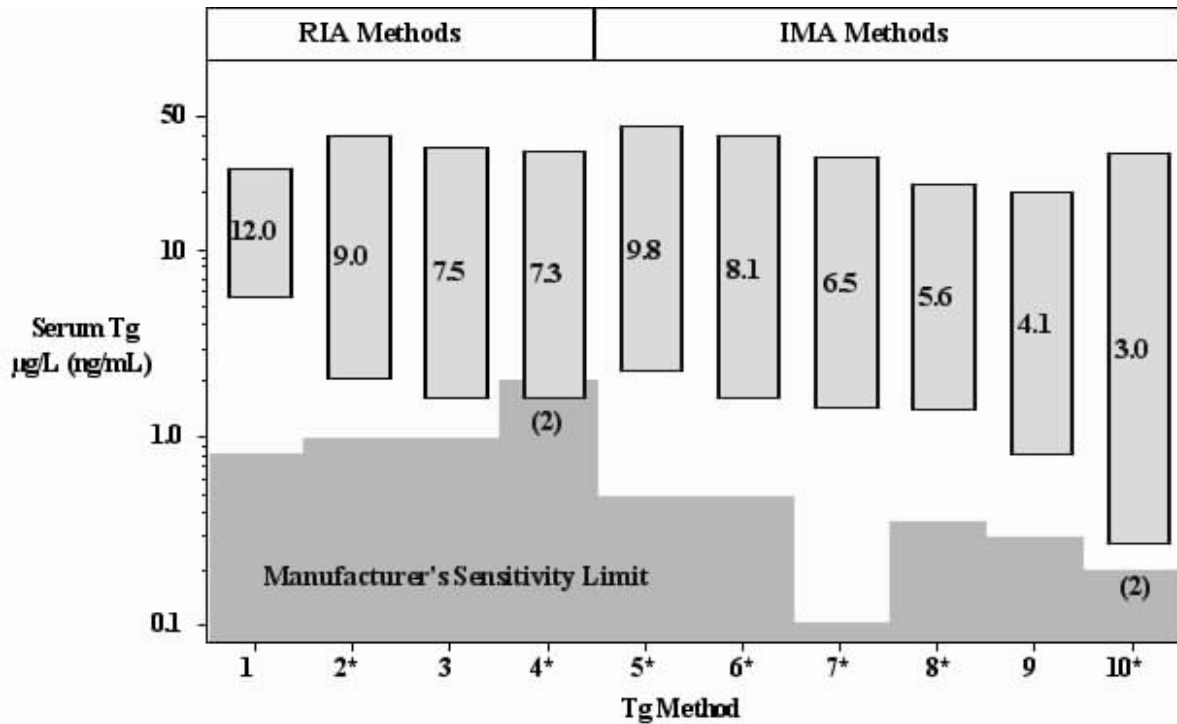


图 7. 10 种不同的Tg 方法测定20例TgAb- 阴性的正常血清的均值 $\pm$ 2sd。方法 #1 = Diagnostic Systems Laboratories, Webster, TX, USA; 方法 #2=University of Southern California RIA, Los Angeles, CA, USA; RIA 方法#3= Kronus RIA, Boise ID, USA; 方法 #4= Endocrine Sciences RIA, Calabasas, CA, USA; 方法 #5 =Nichols Institute Diagnostics ICMA, San Juan Capistrano, CA, USA; 方法#6= Endocrine Sciences ICMA, Calabasas, CA, USA; 方法 #7=Sanofi Pasteur IRMA, Marnes-La-Coquette, France; 方法 #8=Kronus OptiQuant IRMA, Boise ID, USA; 方法 #9=Brahms DynoTest TgS IRMA, Berlin, Germany; 方法 #10=Diagnostic Products Immulite ICMA, Los Angeles, CA, USA. 星号表示分析使用CRM-457 标准。

准则43. 对实验室：考虑如何改变Tg方法

应在性能特征基础上，而不应以成本或方便来选择Tg方法。实验室更改Tg方法前，应先征求临床医师意见，并用TgAb阴性和TgAb阳性的患者血清来比较旧方法和提出的新方法之间的结果。

- TgAb- 阴性患者: 如果新老方法间的结果偏倚 > 10%，应该通知临床医师，并有足够的时间来重新确立重症患者的基准线。
- TgAb- 阳性患者: 实验室应预警临床医师TgAb可能干扰Tg检测的方向。(编者注：引起Tg偏高或偏低。)
- 如果对TgAb阳性血清要报告血清Tg的值，在每份实验室报告上都应有适当的告诫评论：

对IMA方法:

当存在TgAb时，IMA方法可能给出不相称地过低或偏低的Tg水平。在TgAb-阳性的患者中，检测不到血清Tg的结果并不能说明肿瘤就不存在。测到Tg则说明有Tg存在，但测到的浓度可能低于实际水平。

对RIA方法:

当存在TgAb时，RIA方法可给出不相称地过高或偏低的Tg水平（取决于所用的方法）。测到的血清Tg不能作为判断体内有残留甲状腺组织或肿瘤的唯一因素。



3.5.1.2 灵敏度

一些Tg方法太不灵敏,以致无法检测到甲状腺功能正常的参考下限值,约1-3 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL)(与方法有关)。那些在正常血清中检测不到Tg的方法,常因太不灵敏不能用来监测DTC患者疾病是否复发。和TSH一样,Tg分析的功能灵敏度是由批间精密度CV为20%所决定[见3.2.2]。决定Tg分析功能灵敏度的方案是与TSH相同(准则20),还有在准则44中叙述的三点规定。

3.5.1.3 精密度

用变异系数的百分数(% CV)表示的批内和批间精密度,是评估Tg方法性能的重要参数。应该使用三种不同Tg水平的TgAb-阴性的血清库(混合血清基质)来建立精密度(见准则44)。

预期免疫分析方法的批内精密度优于批间精密度。这是因为在单一的批内进行测定,不会受到使用不同批次试剂和仪器校准差异的影响。在评价血清Tg对rhTSH刺激的反应时,批内的精密度可能是一个更相关的参数(308)。在此安排下,常是在同一批次测定基础和rhTSH-激活后3到5天抽取的样本(图6)(308,309)。相反,当用Tg系列监测时,批间间隔越长,差异越大,批间精密度就越差。与用无TgAb的人血清相比,用非人基质来测定低值的精密度可能会产生与实际不符的功能灵敏度。伸延6至12个月是临床上监测DTC患者经典的临床间隔,重要的是,应根据这一时段的数据来确定功能灵敏度和批间精密度。

建议监测患者时,血清Tg测定的最大不精密度的目标应是<5%(表5)。看来目前的Tg方法在用于监测DTC患者的6~12个月的时间间隔,是不可能达到这么高的精密度。这个精密度的问题可以将患者原来储存的样本和当前样本在同一批次测定来解决(9)。

准则 44. Tg 方法的功能灵敏度和批间精密度

应该使用与TSH的相同方案(准则20)和三条重要的规定,建立功能灵敏度和批间精密度:

- 使用不含TgAb的人血清库,要使用敏感的TgAb免疫分析来确定不含TgAb。
- 使用低值、中值、高值血清库的靶值:

-低值库(用来测定功能灵敏度),其血清Tg值应该比预期的功能灵敏度(FS)值高30-50%。

[如果FS=1.0 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL),低值库的靶值应该在1.3到1.5 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL)]

-中值库靶值为~10 $\mu\text{g/L}$ (ng/mL),也就是接近正常范围中值。

-高值库靶值为制造商建议的报告上限值的~90%。

- 评价批间精密度的试验时段至少要6个月。与准则20中测定TSH建议所用的6-8周时间间隔相比,临床上至少6个月时间对于DTC患者的监测更具有代表性。



3.5.1.4 高剂量的弯钩效应

高剂量的弯钩效应主要影响IMA方法。“弯钩效应”会使测定值假性偏低, 特别对肿瘤标志物试验如Tg会造成问题, 因为晚期转移性肿瘤的患者常有非常高的Tg(307,310,315)。当抗原大幅度过量超过捕获抗体结合能力时, 就会发生弯钩效应。对于血清Tg浓度非常高的患者(>1000 μ g/L(ng/mL)), 弯钩效应导致信号不恰当地偏低, 进而引起不相称的偏低或反常的正常范围的结果(312)。

IMA方法的制造商试图用如下两种方法之一来克服弯钩效应的问题:

- 1) 二步法方案。血清样本首先与捕获抗体相反应, 接着将未结合的成分洗去, 然后加入标记抗体后进行第二次温育。
- 2) 对每份样本作二份稀释(常是不稀释的, 和稀释1/10的)来检测有无“弯钩”效应。

当稀释管的结果比不稀释样本的结果高时, 要怀疑有“弯钩”效应。进一步稀释直到稀释管中的结果下降, 两次稀释的血清Tg浓度(编者注: 查对和稀释倍数)相一致。

准则 45. 检测“弯钩”效应

- 推荐二步法以减小弯钩效应的问题。“一步”法容易产生弯钩效应, 应该将每份样本分成二份(未稀释的, 和稀释1/10)来检测, 检查出两者结果间的偏差。
- 制造商在推出分析方法(二步法或一步法)前, 应该评估有无弯钩效应。
- 为查出弯钩效应, 对约20份不同的TgAb阴性样本[血清Tg浓度高于10,000 μ g/L(ng/mL)]进行10倍连续系列稀释测定, 对另外约20份不同的TgAb阴性样本[血清Tg浓度高于100,000 μ g/L(ng/mL)]进行10倍连续系列稀释测定, 直到出现平行结果。

3.5.1.5 甲状腺球蛋白自身抗体(TgAb)的干扰

在DTC患者中, 检测到甲状腺球蛋白自身抗体(TgAb)的比例比普通人群高(分别为~20%对~10%)(276)。对于TgAb阳性的DTC患者, 血清TgAb的系列测定是判断治疗是否有效、疾病是否会复发的独立的预测因子(276-278,316)。含任何浓度TgAb的样本都有可能干扰任何一种的Tg方法(317,318)。因为TgAb是异质性的, 不论是测得的TgAb浓度还是外源性Tg的回收试验, 都不能100%可靠地预测样本中的TgAb是否会引起干扰(276,317,318)。TgAb干扰的最可靠的标志, 可能是存在着RIA/IMA结果的不一致。如果样本中存在TgAb干扰, RIA检测的Tg会典型地高于IMA检测的Tg(276,309)。目前已达成共识, Tg回收试验是检测TgAb的不可靠的方法, 应该取消(276,318)。早先的研究报告在无TgAb的一些血清中也发现回收低, 这实际上是由于早期的TgAb方法不够灵敏而引起的错误。当使用了灵敏的免疫方法, 在回收低时总能测到TgAb。

非竞争性定量免疫分析(IMA)方法看来比RIA方法更容易受到TgAb的干扰, 其证据为IMA方法发现在Graves病患者中Tg值检测不到(319,318)。看来IMAs无法对某些病例中的与TgAb结合的Tg作定量测定, 导致总Tg浓度测定偏低。相反, RIA方法能够对样本中游离的以及TgAb结合的Tg实体定量检测, 当存在TgAb时, RIA方法检测的值普遍要比IMA方法高(276,309)。不同TgAb试验的灵敏性和特异性存在高度的差异[见3.4.6.2]。重要的是, 要由进行Tg检验的实验室来进行TgAb的检测, 因为该实验室有责任选择出最合适的能查出TgAb干扰它所用Tg测定的TgAb方法。



当同时用RIA和IMA方法测定含TgAb的血清, 常会发现RIA:IMA测定的Tg不一致[TgRIA= $\geq 2\mu\text{g/L}$ (ng/mL): TgIMA=检测不到]。这种不一致性反映出TgAb对IMA或/和RIA方法干扰的特性。由于目前阳性的rhTSH-刺激Tg反应的阈值为 $2\mu\text{g/L}$ (ng/mL), 上述RIA与IMA间的不一致的程度会影响临床的决策(308)。通过对临床情况与连续TgAb测定之间平行相关性的判断, 一些人相信对于TgAb阳性患者, RIA检测比IMA检测更能得到在临床上可靠的血清Tg结果, 需要结合临床和相应连续测定的Tg结果来分析(276,320)。但是, 应该强调的是, 没有一种RIA方法可以不受所有TgAb阳性的血清中TgAb的干扰, TgAb对于不同的RIA方法的干扰差异很大, 并与分析试剂的组成和温育条件相关。 ^{125}I -Tg示踪剂的质量和Tg多克隆抗体试剂的特异性, 特定地决定了TgAb对方法干扰的倾向(275,321,322)。

准则 46. TgAb干扰和回收试验

- 回收试验不能可靠地查出TgAb干扰, 不宜使用此法, 并应淘汰。早先的研究发现, 当无TgAb时仍有时见到回收低, 这是由于早期的TgAb方法不够灵敏而引起的错误。当使用灵敏的免疫分析时, 在回收低时总能测到TgAb。
- 对于TgAb-阳性样本, IMA和RIA对Tg测定的不一致, 则提示存在TgAb的干扰(如果测TgAb阴性样本, 则两者结果通常应一致)。
- 对于TgAb阳性的患者, 如果方法检测为不相称的偏低或无法检测到血清Tg, 实验室不应该对已确定DTC的TgAb-阳性患者报告检测不到血清Tg。

虽然目前还没有一种Tg方法可以保证不受TgAb干扰, TgAb干扰IMA方法典型地使测得血清Tg浓度偏低是干扰最严重的问题所在, 因为测值偏低可能会掩盖一些癌转移疾病。对于已经证实为TgAb阳性的DTC患者, 如果所用的方法检测到血清Tg偏低或无法检测到血清Tg时, 那么实验室不应该对已确定DTC的TgAb-阳性患者报告检测不到血清Tg。

准则 47. 对制造商和实验室

Tg方法包装说明书应该注明方法真实的性能特征(即: 在一些临床实验室范围内可以重复的性能)。

- 方法应该对CRM-457 参比制品标准化, 未被CRM-457标准化的方法, 应该提供一个校正因子。
- 所有出版物都应列举出TgAb-阴性甲状腺功能正常者的Tg平均值和2SD的参考值范围限值(用准则48建立), 以便于比较它们的绝对值。
- 方法如果不能在所有正常血清中检测到Tg, 则监测DTC患者的灵敏度也不佳。
- 应该检查用来稀释标准品的基质是否存在偏倚(准则42)。
- 应该用准则44中叙述的方案来确定功能灵敏度以及批内和批间精密度。
- 应该通过检查TgAb-阳性血清[TgAb水平100 至 $>1000\text{ kIU/L}$ (IU/mL)]中RIA:IMA的不一致来评价TgAb的干扰。
- 应该使用TgAb免疫分析测定而不是外源性的Tg回收研究来检查TgAb的干扰(见准则46)。
- 对于已确定的TgAb阳性的DTC患者, 如果方法检测到血清Tg偏低或无法检测到血清Tg时, 实验室不应报告检测不到血清Tg值。



3.5.2 Tg 信使 RNA (mRNA) 检验

仍需确定外周血中Tg mRNA检验的临床价值。在Tg mRNA检验帮助对DTC做出治疗决策之前, 还需解决外周血Tg mRNA的灵敏度和组织特异性的问题(323-325)

已应用逆转录酶-聚合酶链反应 (RT-PCR)扩增组织的特异mRNA来检查黑色素瘤、前列腺和乳腺等恶性肿瘤患者的外周血循环中的肿瘤细胞 (326-328)。现在可得到Tg-特异性的引物使这一技术应用用于检测血液中的Tg mRNA的转录(本)(注)。1996年, 第一次报道了用RT-PCR方法检测甲状腺癌的复发(329)。接着这一技术被用于颈部淋巴结转移灶, 并发现比检测抽吸液中的Tg更灵敏(330)。

某些研究组已经开发了定量的RT-PCR方法来检测血液中Tg mRNA的转录 (323-325, 331-333)。这些研究在所有正常人都可普遍地检测到Tg mRNA, 但与用免疫分析检测到的血清Tg的相关性很差 (331,332)。Tg mRNA和肿瘤重量之间的相关性也不一致。有些研究报道Tg mRNA的量与是否存在转移灶相关, 但另一些报道却认为无此类相关性 (324,331, 333)。这些分歧可能反映出: 所使用Tg引物和RT-PCR系统的灵敏性和特异性的差异; 成像技术和Tg免疫分析灵敏度的差异; 以及患者TSH状态的差异。特异性问题(假阳性)是RT-PCR方法公认的限制的缺点(328, 334)。需要进一步研究来决定: 无甲状腺而无转移灶的患者体内如果可测到Tg mRNA, 是否反映出临床上有隐匿性转移灶, 还是反映了方法的人为问题; 或是不合乎规则的转录。

在Tg mRNA试验普遍应用于临床实践前, 先要证实Tg mRNA试验结果和临床复发之间的相关性, 特别是在一些Tg mRNA阳性但测不到血清Tg水平的患者。因为Tg mRNA试验比血清Tg检测昂贵, 如果Tg mRNA测定在临床上确实有用, 这些试验可保留给那些高危的或TgAb阳性的患者, 因为这些患者的血清Tg检测在诊断上不可靠。

3.5.3 血清Tg参考值

3.5.3.1 甲状腺功能正常者

在甲状腺功能正常者中, 血清Tg浓度呈对数-常态分布。女性的测定值略微高些, 但并不需要与女性相关的参考值范围(335)。吸烟是甲状腺肿和较高血清Tg值的相关因子(336)。Tg参考值范围具有地区敏感性, 因为血清Tg会受到碘的供应和摄取的影响 (337, 338)。选择对象进行正常群体的Tg参考值范围评估时, 应遵循下列排除标准:

- 1) 甲状腺肿
- 2) 吸烟
- 3) 有甲状腺疾病的个人或家族史
- 4) 出现甲状腺自身抗体 (TgAb 和/或 TPOAb)
- 5) 血清TSH < 0.5 mU/L 或 >2.0 mU/L



3.5.3.2 甲状腺手术后的血清Tg值

准则48指出, 实验室报告的Tg参考值区间不适用于甲状腺手术后的患者! 在术后起初的几周内, 决定血清Tg值的因素包括: 手术的彻底程度、Tg从手术切缘漏出的量, 而最重要的是, 是否给予了甲状腺激素以防止预期的TSH升高。事实上, 血清TSH浓度是如此有力的调节血清Tg水平的因子, 以至于在评价任何血清Tg测定的意义前, 常有必要了解患者的TSH状态。

在甲状腺切除术后几周内, 血清Tg浓度普遍以约2-4天的半寿期下降 (340,341), 此时给予甲状腺激素防止TSH升高。在此情况下, 术前和术后6-8周的血清Tg值的关系会给出影响治疗方案的信息。在长期监测中, 用和不用L-T4治疗时 (TSH分别为低或高), 测定血清Tg的浓度会给出不同的信息。血清Tg值变化的模式(L-T4治疗), 与任何单一血清Tg值相比, 是肿瘤质量变化的更好指征(122)。在L-T4治疗期间检测血清Tg浓度, 与在放射性碘 (RAI) 扫描前TSH升高 (L-T4撤药或用rhTSH) 时测定Tg相比较, 是肿瘤质量的一项较稳定的指标。这是因为TSH激活血清Tg升高的强度受到TSH升高程度和时间长短的影响, 这些因素在不同的扫描间差异很大。但是, 如图6所示, 由于TSH通常激活血清Tg超过5倍, 所以对于检查限于颈部疾病时, 测定TSH激活的血清Tg检测会比TSH抑制的血清Tg检测更加敏感(308,309)。TSH激活血清Tg的反应强度可作为肿瘤对TSH灵敏度的指标。RAI-扫描阴性的分化差的转移性肿瘤, 具有迟钝的 (小于3倍) TSH刺激的血清Tg反应(310)。

准则 48. 血清Tg 的正常参考值区间

- 应决定Tg 的本地区参考值范围, 因为血清Tg浓度受到碘摄入的影响。

碘摄入适宜国家: 以CRM-457为标准的TgAb-阴性、甲状腺功能正常的人群, 血清Tg参考值区间约3-40 μ g/L (ng/mL)。

碘摄入不足国家: 人群中Tg均值和Tg参考上限可能升高, 与碘缺乏的程度有关。

- 实验室应该不依赖制造商来确定他们的Tg正常参考值区间。
- 选择120名正常、不吸烟、甲状腺功能正常 (TSH 0.5 - 2.0 mIU/L)、无甲状腺疾病个人或家族史、TgAb或TPOAb阴性、年龄低于40岁的健康正常者, 从他们Tg的对数转换值来确定Tg参考值范围。
- 当报告甲状腺切除的DTC患者血清Tg值时, 引用甲状腺功能正常的参考值范围会产生误导。他们的参考值应该与采用方法的参考上下限、甲状腺质量和TSH的状态有关。

例如, 下面的参考值范围可能适用于甲状腺功能正常, 参考范围在3-40 μ g/L (ng/mL) 的Tg方法:

Tg μ g/L (ng/mL)	条件
3 – 40,	正常甲状腺腺体参考值 (TSH 0.4-4.0 mIU/L)
1.5 – 20,	正常甲状腺腺体参考值 (TSH <0.1 mIU/L)
< 10,	甲状腺一叶切除术 (TSH <0.1 mIU/L)
< 2,	甲状腺近全切除术 (TSH <0.1 mIU/L)

3.5.4 血清Tg检测的临床应用

血清Tg浓度反映出甲状腺质量、甲状腺损伤和TSH受体激活的情况 (122)。由此可见, 血清Tg升高是几乎与任何一种甲状腺病理状态相关的非特异性结果。



3.5.4.1 非新生物情况

当患者有甲状腺肿或处于多数的甲亢状态时, 血清Tg升高。低浓度的血清Tg可以是确认假性(药物性)甲状腺毒症诊断和/或用来调查先天性甲减病因的一个有用的参数(342,343)。

准则 49. 非新生物情况时血清Tg测定

异常升高的血清Tg浓度是由于甲状腺质量的异常、过多的对甲状腺的刺激、或手术继发的甲状腺物理损伤、细针抽吸FNA或甲状腺炎。血清Tg的测定有助于:

- 诊断药物性甲状腺毒症, 其特点是血清Tg不升高。
- 调查新生儿筛查出来的婴儿先天性甲减的病因。
- 评价甲状腺炎性的活动性, 如亚急性甲状腺炎, 胺碘酮诱导性甲状腺炎。

检测血清Tg有时可用于确认甲状腺炎的既往史, 血清Tg浓度通常是最后一个恢复正常的生化指标(长达2年)(344)。最近的研究提出, 血清Tg的检测可作为反映一定人群中碘状态的指标(337,338)。

3.5.4.2 分化型甲状腺癌(DTC)

在DTC情况下, 血清Tg浓度反映了甲状腺质量(肿瘤或正常残余组织)、甲状腺损伤(手术或FNA)、以及TSH受体激活(内源性或rhTSH)(122)。因为TSH水平是血清Tg浓度的主要调节物, 不知道患者的TSH状态很难解释血清Tg值。虽然对于接受治疗的DTC患者没有一个“正常Tg参考值范围”, 但是甲状腺质量和血清间的正常关系提供了一个重要的参考点。当血清TSH水平正常时, 1g甲状腺正常组织可以特定地释放~1 µg/L (ng/mL) Tg到循环中; 如果血清TSH受抑制低于0.1 mU/L, 它仅释放~0.5 µg/L (ng/mL)的Tg。

准则 50. 分化型甲状腺癌(DTC) 血清Tg检测

TgAb- 阴性患者:

- 术前血清值(在FNA前或两周后抽取)可用于测定肿瘤的Tg分泌能力。
- 术后血清Tg急速下降, 反映出手术圆满成功以及血清Tg3-4天的半寿期(如果给予甲状腺激素防止TSH升高)。
- 甲状腺切除的患者是没有“正常值范围”的! 即使TSH升高, 甲状腺完全切除的患者在血清中应该测不到Tg。
- 有用的参考点: 当血清TSH水平正常时, 1g正常甲状腺组织可以释放~1µg/L (ng/mL)的Tg到循环中, 如果TSH受抑制低于0.1 mU/L, 仅释放~0.5 µg/L (ng/mL)的Tg。
- 在L-T4治疗期间(TSH稳定)当测到血清Tg时, 肿瘤的质量变化可通过连续血清Tg测定加以监测, 条件是没有撤除甲状腺激素或rhTSH。
- 在L-T4治疗期间(同时无TgAb)当测不到血清Tg时, TSH激活的血清Tg比TSH抑制的血清Tg, 在查验颈部疾病上更加敏感。
- 在TSH刺激(内源性或rhTSH)后, 血清Tg一般超出基础L-T4治疗时的5倍。配对研究表明rhTSH-刺激的Tg反应大约为甲状腺激素撤药后内源性TSH刺激的Tg反应的一半。



TgAb-阳性的患者:

- 通常表现TSH-激活血清Tg反应迟钝或无反应。
- 连续TgAb测定(用免疫分析)可以作为替代的肿瘤标志物。

(i) 术前血清Tg

一些甲状腺肿瘤没有分泌甲状腺球蛋白的能力。2/3的DTC患者术前血清Tg水平升高证明其肿瘤具有Tg分泌能力,由此推论,术后血清Tg监测在临床上可用于这些患者(307)。这一信息是解释术后血清Tg结果的关键。如果术前Tg水平在正常范围内,术后检测不到血清Tg值的结果就不太可靠。因为不清楚该肿瘤原先是否分泌Tg。当肿瘤相对较小时(直径 $\leq 2\text{cm}$),并且术前血清Tg值高,那么术后监测血清Tg来判断疾病是否复发的灵敏度就最高。(注意:应在FNA前采集术前检测样本,并保存到进行细胞学诊断,或者至少在FNA2周后采集样本。)

(ii) 甲状腺术后1-2个月的血清Tg检测

甲状腺手术后,血清Tg浓度按2-4天的半寿期迅速下降(340)。在术后最初的2个月内,任何手术切缘释放的Tg大部分消散。在这一期间,TSH成为影响血清Tg水平的主要因素。如果手术后立即开始甲状腺激素治疗防止TSH升高,血清Tg浓度将会下降到一个反映正常甲状腺剩余组织加上残余的或转移肿瘤的大小的水平。因为在近全切除术后,甲状腺残留的组织一般大约为2g,如患者甲状腺近全切除手术成功,血清TSH维持在0.1 mU/L以下,血清Tg浓度预期应为 $< 2\mu\text{g/L}$ (ng/mL)。

(iii) L-T4治疗长期监测期间的血清Tg检测

在L-T4治疗期间,当TSH水平稳定,血清Tg水平的任何变化都将反映出肿瘤质量的改变。判断为“Tg分泌功能差”的临床肿瘤复发(术前Tg值在正常范围)可能伴随有术后Tg值低或检测不到。相反,“Tg分泌功能好”的肿瘤复发(术前Tg值升高)通常伴随有血清中Tg进行性升高(122)。当患者TSH稳定,连续血清Tg测定模式在临床上比单次Tg值更有用。但是,当已知Tg分析的正常参考值区间、甲状腺手术范围、和血清TSH水平(在稳定状态下)还是可以解释单次孤立的Tg值测定的意义,如图8所示。

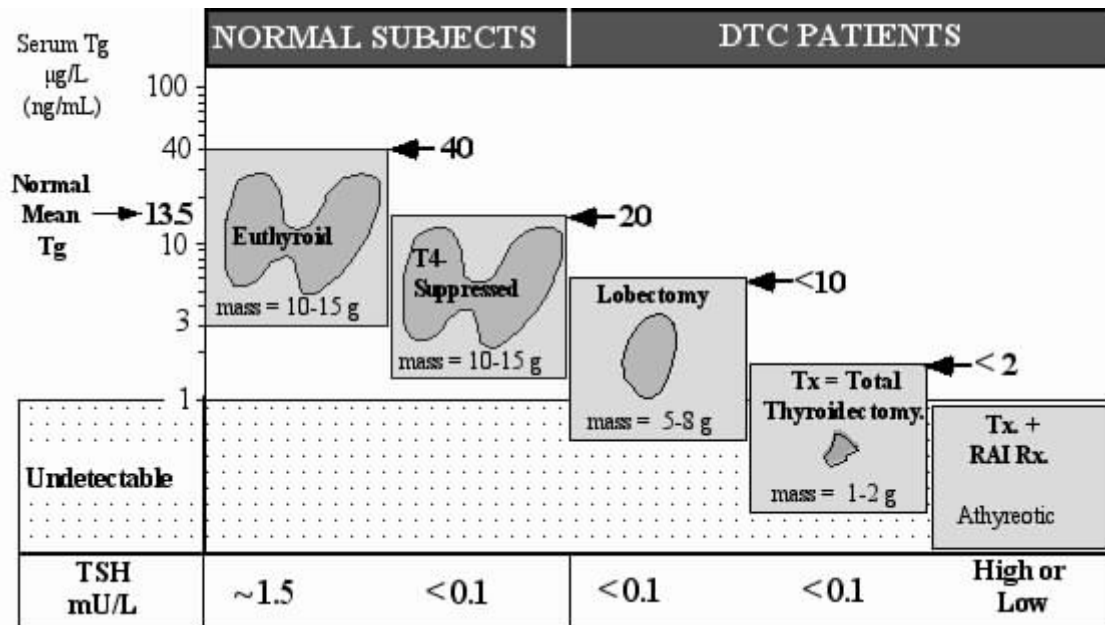


图8. 与甲状腺质量和TSH状态有关的预期血清Tg值。(对于使用图8以外不同正常参考值区间的方法, 使用一个在正常均值的基础上的修正系数来调整该方法的绝对值。(即: 一些方法的正常均值为6.2 µg/L (ng/mL), 修正所示值为50%.)

假定:

- 1) 近期无甲状腺损伤 (外科手术或FNA)
- 2) 应用准则48, 甲状腺正常对照组Tg均值=13.5, 范围3-40 (2SD) µg/L (ng/mL)
- 3) 正常甲状腺组织的质量等于10-15 g
- 4) 在正常TSH水平时, 1g正常的甲状腺组织在血清中产生Tg ~1 µg/L (ng/mL)
- 5) 在TSH < 0.1 mIU/L时, 1g正常的甲状腺组织在血清中产生Tg ~0.5 µg/L (ng/mL)

(iv) 血清Tg对TSH刺激的反应

对于内源性TSH (撤掉甲状腺激素) 或给予重组人TSH(rhTSH), 血清Tg对此反应升高的大小提供了显示肿瘤对TSH灵敏度的指标 (308,309)。典型地, 在TgAb-阴性的患者中, 正常残余的甲状腺或分化良好的肿瘤对TSH的刺激产生一个>3倍基础水平以上的 (TSH-被抑制) 血清Tg的增加(图6)。血清Tg对于内源性TSH的升高反应一般大于对rhTSH的反应(308,345)。此外, 分化不良的肿瘤表现为对TSH刺激反应的血清Tg值为迟钝的升高(<3倍)(310)。应当注意, TgAb阳性患者即使可测到血清Tg浓度的基础值, 在大多数检测中, 一般对rhTSH刺激Tg的反应, 表现为迟钝或缺乏反应。



3.6 降钙素(CT)和RET原癌基因

甲状腺髓样癌(MTC)是来自甲状腺滤泡旁C细胞的恶性变, 约占全部甲状腺肿瘤的~5%-8%。大约75%表现为散发病例, 25%为遗传(9,11,347)。一项有关甲状腺结节的研究报道了MTC的患病率为0.57%(348)。MTC的性质和处理与分化良好的甲状腺滤泡癌不同(346)。遗传性MTC主要为“多发性内分泌腺病(MEN) 2A型和2B型”。它们是常染色体显性遗传的多腺体病综合征, 具有年龄相关的外显率和不同的表达。家族性MTC(FMTC)的特点是出现MTC, 但不伴有其他任何内分泌病。在1993年, 发现了RET原癌基因的遗传突变。与MTC发病有关的基因已知是位于第10染色体长臂的亚带10q11.2 (349,350)。表7概述了遗传性MEN的表型表达。

3.6.1 检测血清降钙素(CT)查出MTC

3.6.1.1 降钙素的生物合成

编码人体降钙素的CALC-1基因位于11号染色体短臂末端(11p15.3-15.5)。虽然甲状腺滤泡旁C细胞是循环中成熟CT的主要来源, 甲状腺外其他几种神经内分泌细胞正常情况下也含有并分泌降钙素。

成熟降钙素是一个32个氨基酸的多肽, 含有一个二硫键和羧基端脯氨酸, 羧基端脯氨酸在降钙素功能的成熟上起着重要的作用(350)。如图9所示, 成熟CT由滤泡旁C细胞内较大的141个氨基酸的前体(前降钙素原)翻译后修饰形成。前降钙素原先经过切割出一个信号肽成为降钙素原(proCT), proCT是一种具有116个氨基酸残基的激素原。在proCT氨基端有57个氨基酸的多肽, 称为氨基降钙素原(或PAS-57), 在羧基端有一个21个氨基酸的多肽, 称为降钙素羧基端多肽-1(CCP-1或钙抑肽Katacalcin)。含33个氨基酸的未成熟CT肽位于ProCT分子的中心。成熟有活性的CT有32个氨基酸(羧基端有一个酰胺脯氨酸), 经肽基甘氨酸酰胺化单氧化酶(PAM)作用于未成熟CT而形成。

3.6.1.2 降钙素(CT)方法

1988年之前, 降钙素的测定方法主要是基于多克隆抗体的放射免疫分析法, 能识别成熟CT单体及其它循环物(前体和降解产物)。这些早期方法缺少特异性和灵敏性。1988年后, 随着使用单克隆抗体的新的免疫测定技术的改进, (其中一种单克隆抗体能识别N末端区域, 另一个识别C末端区域), 开发出具有更特异和更灵敏的测定成熟32个氨基酸单体CT的分析方法。近来使用双位点免疫定量方法在83%健康男性和46%健康女性的空腹血浆样本中测出CT (351-353)。不同方法测定的CT值可以是不同的, 带来了对CT结果判读的困难。重要的是, 临床医师要认识到CT检测确实存在着方法间的差异, 并且, 应注意这个方法间的差异对正确地判读CT在诊断和治疗MTC所起的作用。

3.6.1.3 降钙素(CT)的基础值

1968年发现降钙素的基础值是一个有助于诊断MTC的标志物(354)。目前, 对成熟CT特异的 双位点的IMA方法, 报告所有正常人和90%的非MTC的甲状腺疾病患者的CT值, 通常小于10 ng/L (pg/mL) (348, 355-357)。

表7. MEN 疾病表型

表型	临床特点
MEN 2A型(60%)	甲状腺髓样癌(MTC) 100%
	嗜铬细胞瘤 8%-60%
	甲旁亢 5%-20%
	背痛 <5%
MEN 2B型(5%)	MTC 100%
	嗜铬细胞瘤 50%
	马方(Marfan)样体型 100%
	肠道黏膜神经瘤和神经节神经瘤 100%
FMTc (35%)	MTC 100%

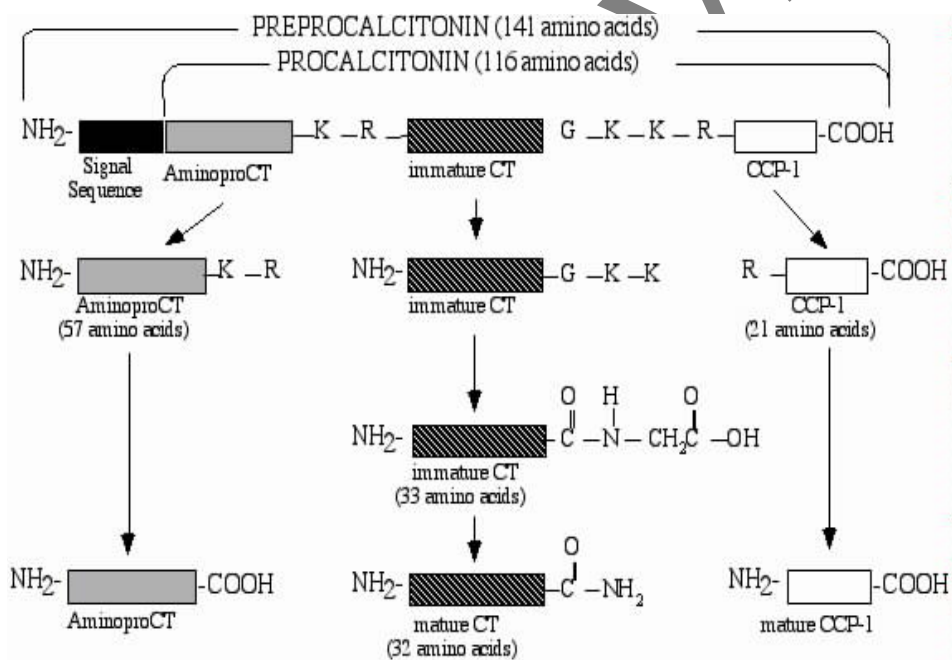


图9. 降钙素转录后的成熟过程

准则 51. 降钙素(CT)分析方法

- 成熟CT (32个氨基酸) 是MTC主要的肿瘤标志物。
- 双位点免疫检测对32个氨基酸单体成熟CT是特异的, 应该用于MTC诊断和监测的目标。
- 目前一般都接受正常阈值低限为低于10 pg/ml (ng/L)。
- 随着新的更敏感的CT试剂盒的使用, 需要重新制定CT的阈值低限。

MTC微腺瘤和大腺瘤(散发和家族性)患者的CT升高与肿瘤大小相关(358)。当患者为MEN 2型时, 最早出现的组织学变化为C细胞增生 (HCC), 早于发展为微腺瘤。HCC在出生后不久就出现, 但在此疾病阶段, CT的基础值可以是正常的。正常的CT值不能排除在最初阶段有C细胞的病理学改变。

3.6.1.4 用于诊断MTC的激发降钙素兴奋试验

激发性刺激, 如钙和五肽胃泌素(Pg), 或在无Pg时用奥美拉唑(omeprazole), 可发现C细胞的异常, 因为它们可以在MTC各阶段诱导CT水平的增高(359-364)。这类试验的一个优点在于, 可以在MTC最早出现之前查出HCC。在已经可以方便地进行基因检测的一些国家如美国, 只根据基因检测就可以对基因携带者进行手术, 很少使用激发试验。一些国家很难获得Pg, 只依据基因检测就进行大多数的手术。激发试验常用于:

- 1) 当CT基础值仅轻度升高(小于100 pg/ml)时, 用于确定MTC术前诊断
- 2) 在RET基因阳性携带者, 检出C-细胞疾病
- 3) RET基因阳性儿童的术前监测
- 4) 用于术后监测肿瘤的复发
- 5) 当不能开展基因检测时

准则 52. 血清CT检测诊断MTC的临床应用

- 降钙素(CT)的检测是方法依赖性的。这可影响对CT检测结果的判读。
- 血清降钙素水平的升高可见于自身免疫性甲状腺病 (桥本甲状腺炎, Graves病) 的患者。
- C细胞增生(HCC) 是最早出现的组织学变化, 早于微小癌的发展。在发展为MTC的最初阶段出现HCC时, CT可以不增高。
- 血清CT增高超过10 pg/ml (ng/L) 提示处于MTC早期的微小癌阶段。
- CT水平与肿瘤质量呈正相关。



(i) 五肽胃泌素(Pg)兴奋试验

虽然已广泛应用Pg兴奋试验诊断MTC,但是在许多国家仍无法开展(359,365)。Pg兴奋试验包括超过5秒静脉注入Pg(0.5μg/kg体重)。缓慢给药可以减少一过性的副反应(恶心、呕吐、胸骨下紧缩感、面部潮红、和肢端针刺样痛痒),提高患者对试验的耐受性。抽取基础值血液样本,并于静脉注射开始后分别在1、2、5分钟,和有时10分钟抽取血样。

表8列出了Pg兴奋试验CT值的结果及判读。80%的健康成人志愿者Pg激发的CT峰值低于10 ng/L (pg/mL), 95%的普通人群Pg激发的CT峰值低于30 ng/L (pg/mL)。正常男性检测值比女性高。阳性试验[CT反应峰值高于100ng/L(pg/mL)]提示患有MTC。有MEN2型家族性突变的患者,常见到峰值在30-100 ng/L(pg/mL),提示有HCC或微小癌的发生。虽然现在知道由Pg引起的CT增高低于100ng/L(pg/mL)可发生在除MTC外的甲状腺疾病的成年患者(见表9),在没有携带RET突变的12岁以下儿童还未获得这样的结果(366)。携带RET突变的青年个体虽然没有出现CT增高,但是并不能排除在年龄增大后发生MTC的可能性。

表8.五肽胃泌素(Pg)试验的判读

	CT ng/L (pg/mL)	判读
1	CT 峰值 < 10	正常 (80% 成人)
3	CT 峰值 >30<50	5% 的正常成人
4	CT 峰值 >50<100	可能有MTC或其他甲状腺疾病(注)
5	CT 峰值 >100	可能是MTC (注)
6	基础值或Pg激发后 CT 值 > 10 pg/ml	C-细胞病理改变或MEN 2型和MTC患者术后有残留组织

目前尚未确定对RET变异MEN2型儿童C细胞病理进行Pg兴奋试验的最佳年龄。它随着突变的类型、家族性MEN2型的类型而不同。因而,对有遗传突变的年轻携带者,虽然CT基础值正常,但是仍需尽早地进行遗传检测和兴奋试验,对MEN2B型在出生后进行检查,对MEN2A型在2岁时进行检查。然而需要强调的是,新生儿的CT水平正常往往较高,从出生到1岁随着年龄的增长而下降,至今尚无此年龄组兴奋试验的数据(369)。出现阳性结果进行甲状腺全切除术前,每年需要重复一次该试验。考虑MTC预后,对Pg试验耐受性低,受家族心理暗示的患者,一些医师不主张在阳性前反复进行Pg检查,而是选择对所有RET突变携带者在4-5岁进行甲状腺切除术。

(ii) 钙兴奋试验

此试验以超过30秒以上的时间静脉给药葡萄糖酸钙(2.5mg/kg)。血液样本取自基准线时及注射钙后1、2和5min。如CT水平增高超过100ng/L则怀疑有C细胞增生。此试验除有暂时的全身轻度温热感外无严重副作用。有报道称:钙注射试验对MTC的诊断敏感性不如Pg试验(370-372)。此外,此试验尚未使用对成熟CT单体特异的检验进行评价,需要再评估。有报道称:钙注射与Pg试验联合应用增强了Pg试验的敏感性(359)。

执笔注: MTC在原文误为CMT。



3.6.1.5 手术患者随访的基础值及兴奋试验的CT值

甲状腺切除术后, 血清CT检测是公认的肿瘤标记物, 用于检测是否有残余甲状腺组织或者转移灶。检测到CT基础值及Pg兴奋后CT值, 则证明有残余肿瘤组织的存在(373,374)。

准则 53. MTC手术后的随访

- 应在MTC手术前和手术后6月检查血清CT和癌胚抗原CEA。有些患者血清CT水平降低缓慢。第一次术后CT检测应不早于手术后2周。
- 只有检测不到基础CT值和Pg或钙剂兴奋试验后CT值, 才能排除存在残留组织或有MTC复发。

考虑到血清降钙素的消失速度的不同, 至少要等到手术2周后才能取手术后的第一份对照样本(375)。需要注意的是, 在检测CT的同时还要检测癌胚抗原 (CEA) 以监测MTC的复发。CEA是MTC未分化的有用标志物, 并可提示预后不良。

3.6.1.6 除MTC外降钙素水平升高的情况

如表9所示, 降钙素水平升高还可见于除MTC和神经内分泌肿瘤以外的其他病理情况。自身免疫性甲状腺病(桥本甲状腺炎或 Graves病)可有血清降钙素释放增加 (376-378)。还注意到非甲状腺因素也可引起CT升高, 包括严重肾功能不全、高钙血症、高胃泌素血症、急性肺部感染、和其它局部以及全身的脓毒症 (恶性贫血、医源性疾病等) (379-381)。

有些情况CT水平增高是由多克隆抗体RIA查出的, 所以这些报告还需要经目前的单克隆抗体检测方法证实, 因为单克隆抗体对成熟CT的特异性更高。通过特异性抗ProCT、CT和CCP-1抗体血清, 结合高效液相色谱(HPLC)和凝胶过滤法研究显示, 一些有明显的血清CT升高非甲状腺疾病的患者具有完整型ProCT的显著升高, 和未裂解型CT-CCP-1轻度增高。这些患者通常具有正常或轻微升高的成熟CT值。运用表位(抗原决定簇)特异抗血清和分离技术发现, 除MTC外的其他一些肿瘤也可以分泌大量的成熟CT和多种CT前体(382)。这可见于多种神经内分泌肿瘤, 尤其是小细胞肺癌和支气管类癌。然而患有神经内分泌肿瘤的患者, Pg兴奋试验后仅可观察到CT水平轻度的增高(383)。C细胞增生也发生在淋巴细胞性甲状腺炎和一些分化型甲状腺癌患者(384-386)。这类C细胞增生可表现为成熟CT水平轻度的增高, 以及对Pg试验出现增强的CT反应。

表 9. 除MTC外有降钙素水平升高的情况

神经内分泌肿瘤	肺小细胞癌, 支气管和肠道类癌, 所有神经内分泌肿瘤
良性C细胞增生(HCC)	自身免疫性甲状腺疾病 分化型甲状腺癌
其他疾病	肾脏疾病 高胃泌素血症 高钙血症

3.6.2 筛查RET原癌基因以查出MTC

1987年前, 唯一可用于检测发生MTC危险者的方法是对MTC患者的家族成员反复进行CT兴奋检测。随后识别出与MEN2型发病相关基因位于10号染色体的10q11.2, 这一发现使得有可能用基因筛查来检查发病危险者(378)。现在已经清楚10号染色体上的某些突变类型可激活RET原癌基因, 此基因是MEN2型发病的根源(349,350)。这使得临床医师可以在出现首发生物学症状之前进行筛查。目前在许多发达国家, 基因检查已经是此诊断的第一线方法。然而为了准确地预测疾病, 基因筛查结果阳性后, 还需要对家庭中健康及受累成员二者进行详尽的随访调查。

RET基因是一个有21外显子基因, 编码膜酪氨酸激酶受体。这一膜相关受体的特征是在细胞外结构区有类钙粘连蛋白(cadherin-like)区, 一个紧贴膜外的富含半胱氨酸区和一个胞内的酪氨酸激酶结构区。如图10所示, 到目前为止, 已提到与MEN2有关的突变位于外显子8、10、11、13、14、15 和16 (368,387-391)。

3.6.2.1 用于MEN 2型诊断的基因筛查

MEN2型是一常染色体显性遗传的家族性疾病, 发病是由于激活了RET原癌基因的错义突变(349)。所有MTCs中大约75%是散发性和单发性。此肿瘤的44%有位于密码子918的体细胞突变(392)。必需对所有旁系家族成员、先证者(index case)的前辈和后代、以及已知受累成员的所有后代进行筛查。筛查是基于使用基因组DNA序列分析来识别先证者的RET原癌基因的突变。然后通过系统研究找出家族中所有可能存在此突变的受累成员(图 11) (393,394)。

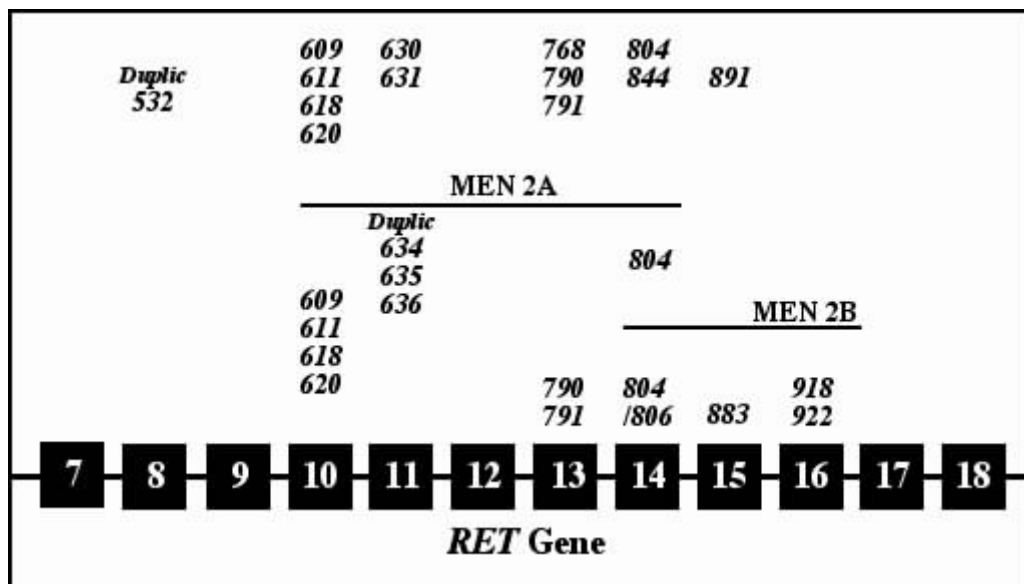


图10. 最常见的RET原癌基因突变

迄今有5种RET基因突变出现在97%的MEN2型病例中(图10)。引起MEN2A型的突变主要影响细胞外富含半胱氨酸的结构区, 将一个半胱氨酸转变为另一种氨基酸。突变还发生在外显子10的密码子609、611、618和620的半胱氨酸以及密码子634的半胱氨酸(368,378)。家族性甲状腺髓样癌 (FMTc) 绝大多数与外显子10的半胱氨酸密码子以及外显子13、14上的密码子768和804的突变相

关(368)。大多数 (87%) 的外显子11的密码子634的突变与MEN2A型的多器官表现 (MTC, 嗜铬细胞瘤, 甲状旁腺功能亢进) 相关(9,378)。

MEN2B型相关肿瘤是由细胞内的TK2结构区的突变引起。大多数(97%)MEN2B型涉及到外显子16的918密码子氨基酸突变, 即由甲硫氨酸转变为苏氨酸。这经常作为新的种系突变出现(395)。少数MEN2B型(5%)突变影响到外显子15的922或883密码子的氨基酸(378,394)。表型和基因型的相关性提示: 它与经典的外显子10RET突变的患者相比, 非半胱氨酸RET突变的FMTC患者的C-细胞疾病的发病时间可延迟到生命晚期 (368,396)。

准则 54. MTC的基因危险

- 在MEN 2型家族中, 50%家族成员潜在地受此病侵袭。
- 几乎所有存在RET突变的患者均会发展为MTC。(提示: RET 基因非活化突变同样会引起先天性巨结肠病)。
- 发现5%-10%的散发性MTC携带有种系的RET突变. 所以有理由将RET检验用于所有表现为散发性的MTC患者。

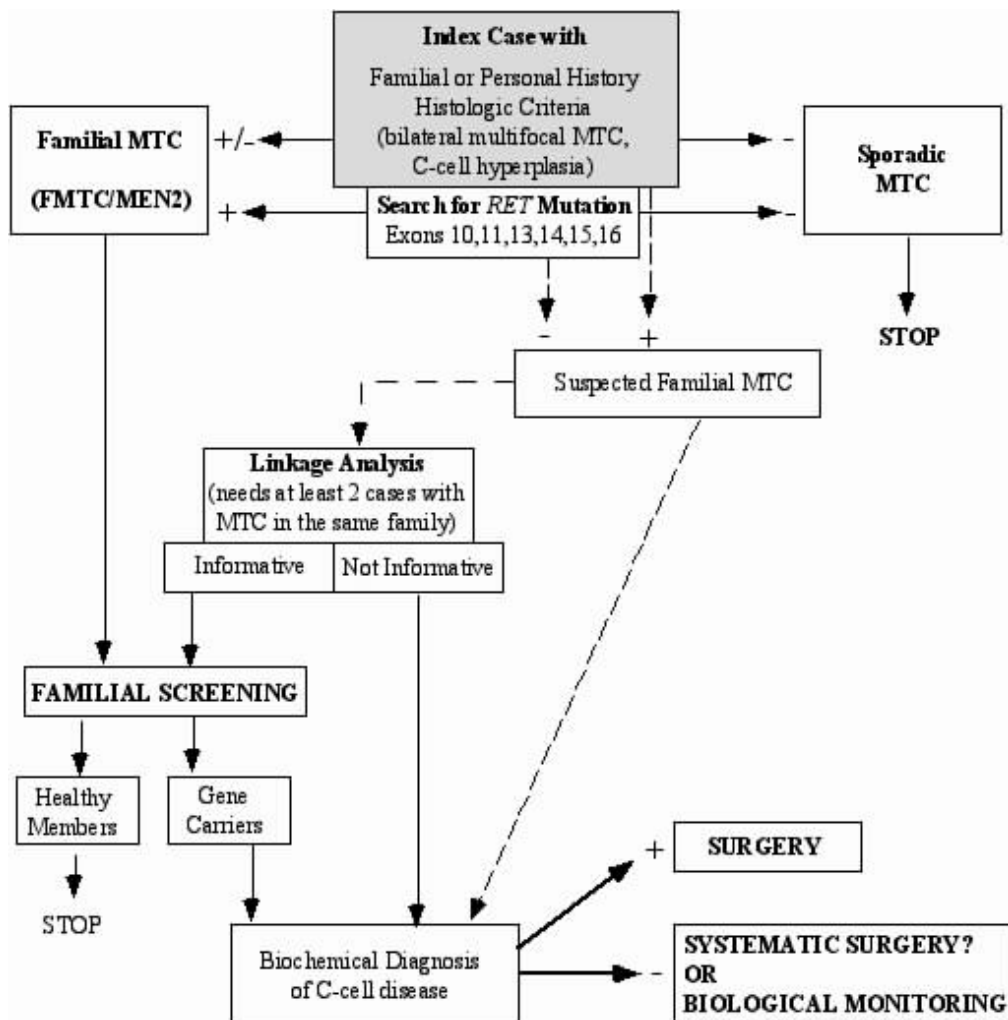


图 11. MTC 诊断治疗流程



当确认一个家族中存在突变, 那么可以确定的是: 没有携带这一突变的家族成员和他们的后代将不会有病症出现。反之, 家族中那些携带这一突变的个体将有病变, 需要接受外科治疗来控制 and 防止疾病的发展(图11)。如果先证者证明没有基因突变, 有3%的MEN2A和5%的FMTC患者可出现这种情况, 可用连锁分析预测家族成员的危险程度。如果家族的谱系无法得出这类预测, 那么要查出疾病, 只能在合适的时间间隔进行反复的临床研究和特异的生物学试验。

ARCHIVED



3.7 尿碘检测

饮食中适量摄入碘是正常甲状腺腺体激素产生和维持正常甲状腺功能状态所必需的。所以, 测量从食品或药品中摄入的碘量具有临床意义。在临床实验室, 碘的测量主要用于流行病学调查或研究(3)。迄今为止, 碘量分析主要应用于评估特定人群的饮食中碘摄入量(3,397,398)。这是一个相当重要的课题, 据估计, 全世界范围内约有22亿人正受着碘缺乏症(IDD)的潜在威胁。甚至在一些发达国家, 如美国和澳大利亚, 存在饮食中碘摄入量的减少, 而在很多欧洲国家, 饮食碘摄入量长期处于临界线(398,399)。

由于大多数摄入的碘从尿液中排出的, 测量尿碘(UI)排量可以准确地估计从食品中摄入的碘量(399)。大多数情况下, 尿碘UI的测定对评估个体长期摄碘的状态是毫无帮助的, 因为所得的结果只能反映近期饮食摄入的碘量。然而, 在某个地区的特定人群中选取具有代表性的群体进行尿碘的测定是该地区碘量水平的一个有用的指标(399,400)。除了评估人群中的UI浓度, 碘测定的其他应用还包括测定牛奶、食品以及饮用水中的碘量(401,402)。甲状腺和乳腺组织的碘测定已经成为了科研工作的一部分(403)。由于血清中低浓度的无机碘($\sim 1\text{pg/dl}$)与相对大量的激素碘相关, 所以对于血浆无机碘(PII)的测量只限于对妊娠的研究(404)。

3.7.1 尿碘(UI)排出

研究人群UI排量水平可对此人群的饮食摄入碘量的状况提供一个相对准确的估计(399,400)。最好从24小时尿样本测定碘的摄入量, 但是从人力物力的供应来看, 24小时尿样本的收集和测量对于流行病学研究是不实际的。随机抽样的尿液样本稀释程度不同, 这可以用所得的结果对尿肌酐含量来调整, 即以碘排量 μg /肌酐 g 进行校正(405)。昼夜和季节周期的碘和肌酐的排出有所不同。所以碘/肌酐比值在昼夜之间、或在一年不同时间可以有差异。除此以外, 没有理想的方法可以替代难以实现的24小时尿液收集的准确性。在发展中国家, 用尿碘估计碘摄入是很重要的, 而碘排量/肌酐比值难以满意, 因为不同程度的营养不良会继发引起肌酐排出率降低(406)。还需指出, 即使健康的、营养状况良好的研究对象的尿碘排量也会出现变化。基于这些原因, 并为了避免不同的肌酐检测方法带来的误差, 世界卫生组织(WHO)推荐: 流行病学研究时, 以 μg 尿碘对体积(pg/dL 或 $\mu\text{g/L}$)尿液来表示尿碘(UI)排量。在每一研究人群中选取大量(~ 50)研究对象能够部分弥补随机抽样尿液样本不同程度的尿液稀释的固有差别。最近报道提出: 如果营养合适, 使用年龄和性别调整的空腹晨尿样本的尿碘/肌酐(UI/Cr)比值与真实的(24小时)尿碘排量非常接近(400,407)。虽然在温热气候里季节差异可能不严重, 但是在北欧, 乳制品是膳食摄入碘的主要来源, 季节差异确实会影响结果。冬季在室内用富含矿物质的饲料喂养奶牛, 导致人群在冬季较高的尿碘排出。最新报道UI有昼夜差异, 其中值出现在清晨或在最后一餐后的8-12h后, 提出应该采取这些时段的尿样(408)。

3.7.2 饮食碘

在许多国家, 通过食盐加碘来实现适量的饮食碘摄入, 但是只在一些发达国家中强制提供食盐加碘, 而在另外一些国家采取自愿。有证据显示在一些工业国家碘消费有所下降(399)。碘摄入量的减少也见于素食人群, 尤其是那些果蔬生长在缺碘土壤的地区(409)。



3.7.3 尿碘测量单位

流行病学研究中, 碘排出量通常用 μg 作单位。与SI的换算如下:

- 1) $\mu\text{g/dL} = 0.07874 \mu\text{mol/L}$
- 2) $1.0 \text{ pmol/L} = 12.7 \text{ pg/dL}$

3.7.4 碘测定的应用

3.7.4.1 流行病学调查

碘测量主要应用在于流行病学调查。推荐每日的碘摄入量为: 儿童 $\sim 90 \mu\text{g/d}$, 成人 $150 \mu\text{g/d}$, 孕妇或哺乳期母亲 $200 \mu\text{g/d}$ 。规范尿碘排量可作为碘缺乏严重程度的指标, 建议见表10 (39 8)。

表10. 尿碘排量和碘缺乏

*碘缺乏	无	轻微	中等	严重
尿碘 $\mu\text{g/L}$	>100	50-99	20-49	<20
甲状腺肿的发生率	<5%	5.0%-19.9%	20%-29.9%(注)	>30%
*见 IDD Newsletter Aug 1999 15:33-48				

3.7.4.2 孕妇和新生儿

幸运的是, 严重缺碘所导致的地方性呆小症的发生率由于饮食补碘计划而下降。但是, 碘缺乏仍然存在全球的很多地区。孕妇缺碘会产生更为严重的后果, 母体碘的缺乏影响胎儿和新生儿的甲状腺功能状态(2,410)。对妊娠期尿碘排量的报道存在差异。有些研究报道孕期有所下降或无变化, 而另一些显示有所增加(47,411,413), 这些差异可能反映了饮食中碘的补充量的不同(414)。但是, 用尿碘量来估计孕期碘量是否充足可能产生误导, 因为妊娠可以引起碘排出率的增加。这就导致了尿碘浓度的相对增高, 会造成体内碘充足的错觉(415)。有研究表明, 当孕期饮食中碘摄入量不足, 甲状腺处于应激状态, 甲状腺容量和血清Tg都会增加, 而FT4相对下降(47)。给予孕妇补碘会导致尿碘排量的增加以及缺碘的甲状腺变化的逆转。最近再一次强调防止孕期甲状腺功能损害的重要性, 有报道表明即使母亲为轻度甲减, 她的孩子也会发生神经心理发育缺陷(64,65)。这个发现与早期报道孕期血浆无机碘(PII)缺乏的相一致。早期测量PII的方法是基于给予患者示踪量的 ^{131}I , 随后测量母亲血清和尿液中的放射性同位素的比活性(specific activity)(405)。其他方法是测定血清和尿液中碘对肌酐的比值(405,416)。最近的一项研究应用高氯酸盐消化方法和公式: 血浆无机碘(PII)=总血清碘含量-蛋白结合的碘含量, 得出以下结论: 至少在碘充足的地区中, PII值在孕期没有被抑制的趋势(404)。

执笔注: 中等碘缺乏引起甲状腺肿发生率应是20%-29.9%, 原文误为2%-29.9%



3.7.4.3 碘的过量摄入

众所周知, 过量摄入碘在一些敏感个体中可能抑制甲状腺激素的合成(Wolff Chaikhoff效应), 此效应是医源性的(417,418)。既往具有自主性甲状腺而碘缺乏的个体, 当同样摄入过量的碘时可能引起甲亢(Jod Basedow效应)(398,420)。群体饮食补碘计划会对发生甲状腺疾病的类型产生影响。这对甲亢尤其明显, 当碘摄入量低时, 毒性结节性甲状腺肿得更明显, 而当碘摄入量高时Graves病更明显。补充饮食碘摄入量的项目在随访的第一年中可能出现暂时性甲亢的增加, 但随访一个时期后, 表明此项目可以减少毒性结节性甲状腺肿和Graves病的发生(421)。疾病表现的差异也改变了甲状腺肿瘤的流行谱, 当碘补充量增加, 乳头状甲状腺癌相对增加, 并且改进预后(422)。

担心碘过量产生的副作用已经妨碍到了预防性补碘计划的引进和执行, 甚至担心给碘后引起放射性碘的意外释放的可能性。但是, 一般公认补充碘剂的好处远远大于过量碘剂所带来的风险(398)。因此, 检测碘量来评估碘过量状态的需要, 超过对碘缺乏的评估。过量碘的摄入可能源自服用富碘的药物, 如常用的处方抗心律失常药物胺碘酮, 或含碘的抗感染药物(准则5)(75,418,419,421,423)。服用胺碘酮对甲状腺造成的影响可能与患者居住地区的饮食碘摄入量有关。在那些饮食碘摄入量较高的地区, 例如美国, 甲减较为常见; 而在一些饮食碘摄入量较低的地区, 如欧洲部分国家, 甲亢较为常见(424)。

过量的饮食碘摄入也与自身免疫性甲状腺炎发生的增加, 或预防性补碘后甲状腺球蛋白抗体阳性的增加有关(425,426)。这可能是由于较多碘化的甲状腺球蛋白的抗原性增强的缘故。通常收集24h尿来评估碘过量。需要了解的是, 放射造影剂中所含的有机碘会被体内脂肪吸收。脂肪吸收的碘释放缓慢, 在应用这种造影剂后的几个月甚至半年, 尿碘排量持续增高(427)。

3.7.5 碘的方法学

测量生物样本中碘含量的方法在传统上是将有机碘化合物转化为无机碘、并除去会干扰无机碘比色计法的那些潜在干扰因素(如硫氰酸盐)(428)。步骤包括预先进行消化, 然后通过碘在 Sandell-Kolthoff (SK) 反应中的催化作用而进行比色测定。在这个反应中, 在砷离子存在下, Ce^{4+} (4价铈离子) 被还原成 Ce^{3+} (3价铈离子), 同时, As^{3+} (3价砷离子) 被氧化成 As^{5+} (5价砷离子), 产生颜色变化从黄色变成了无色。经过短暂的温育期, 可以用比色法来测定颜色的变化。这个反应与时间相关, 有些报道建议添加硫酸亚铁铵来终止反应, 暂缓一刻再进行比色测量。通过改变铈/砷离子比率来进一步修饰SK反应可得到一种动态分析方法。这种动态方法可以增加反应的灵敏度(429)。先前已经提到去除SK反应中的干扰因素, 如硫氰酸盐的问题, 有报道比较了6种碘定量分析方法, 认为SK反应中的这些干扰因素大多与消化步骤不当有关(428)。常规应用主要有两种样品消化法, 即干、湿灰化法。



3.7.5.1 干灰化法

1944年首先采用干灰化技术, 随后得到不断改良。这个方法包括在100°C的炉子内对样本进行预先干燥, 随后干燥的残渣在强碱(KOH/K₂CO₃)存在时, 在600°C高温中灰化约3小时。灰分随后被溶解在蒸馏水中, 再用上述比色法测定碘浓度。这是一个较为费时和昂贵的方法, 要用派莱克斯(pyrex) 厚壁耐热(pyrex)玻璃试管来抵抗高温以及马弗炉(muffle furnace), 理想上应装备带芯片的温控器。它不仅在尿液样本中可以得到很好的结果, 也同样适合测量那些需要彻底消化的食品和动物组织样本中的碘含量。严格温度控制对于防止碘的丢失特别有用, 温度漂移到600°C以上或者延长灰化的时间都能引起碘丢失(429,430)。重要的是, 碘的标准液也必须强制灰化, 因为已经知道加入氢氧化钾会减弱基于SK反应检测方法的灵敏度。在特异的放免法测定T₃、T₄发明之前, 就是用这些方法来检测甲状腺激素中蛋白结合碘(PBI)。由于多个样品一起在同一马弗炉中灰化, 干灰化方法容易受到含高碘样品的交叉污染。为了克服这个可能性, 一些研究者建议对样品进行初步筛选以查出含高碘的样品。交叉污染问题在干灰化方法中格外突出, 但是交叉污染也会影响所有碘的定量测定方法。所以最好将碘测量区域与其他实验室活动隔离开来, 尤其是那些要用到含碘试剂的实验活动。流行病学研究中, 大量尿液的处理和挥发和收集标本的审美问题同样需要独立的实验室。



3.7.5.2 湿灰化法

目前最常用的消化法是早在1951年提出的湿灰化法技术, 虽然这个技术仍存在争议。这个方法用高氯酸消化尿液样本。此法已经自动化。广泛应用了自动分析仪方法, 它依赖于使用酸消化和一个透析模块。后者易于受到如硫氰酸盐等物质的干扰(428)。改进了几种测碘的湿灰化方法。主要致力于简化方法、减低人力成本和使之更适于流行病学的现场研究。得到与已建立方法相似结果的多种方法(431)。其中一种方法, 作者指出一个技术员一天可以完成150项测试, 每个测试的成本低于\$0.50(431)。最近还讲叙了更简单的用酸消化或紫外线UV照射样品的方法(432)。湿灰化技术的缺点是: 高氯酸和氯酸钾是潜在爆炸品, 需要使用专用的、昂贵的通风柜。基于这个原因, 提出一种危险性较小的, 用过硫酸铵作为氧化剂消化尿液样本的方法。但是, 研究显示: 过硫酸铵法对于矿化的碘化合物, 如T₃、T₄、胺碘酮等不那么有效。还报道了进一步改进, 涉及将消化和反应过程结合成一种微板技术(microplate technology)(433)。最新开发了一种试剂盒的分析方法, 用活性炭纯化后可以更快地定量UI(Uroiod, Merck KGaA, Darmstadt, 德国)。这个方法看来简单易行, 有可能应用于流行病学研究领域或者偶尔用于评估过量碘摄入(434)。

3.7.5.3 碘方法的灵敏性和特异性

使用SK反应的分析方法的灵敏度在10-40μg/L之间(注1), 对于UI测定来说太足够了。动态的分析可以提供更高的灵敏度(0.01ng/L)(注2)(429)。电感耦合等离子体-质谱法(ICP-MS)的报道灵敏度在2μg/L范围内(413,434)。只要开始的消化是完全的, SK试验对碘是非常特异的。但是不完全的消化会导致含碘药物、硫氰酸盐、维生素C, 或重金属如汞或银对反应的干扰(429)。在专家手中, SK反应会得到很好的分析内和分析间精密度, 常规可达到CV<5%。如果消化过程控制适当, 碘的回收率应在90%-100% (429,430,432)。

执笔注1: 应是“μg/L”, 原文误为“mg/L”; 注2: 应是“ng/L”, 原文误为“pg/L”。



3.7.5.4 非灰化法

除了酸、碱消化法外, 其他公布的碘测定方法包括: 在酸性环境下使用溴作为消化剂;或用紫外线照射(430,435)。已经使用碘选择性电极和质谱法测量不同液体的样品包括尿液的碘(436,437)。此时, 测得的碘活性与碘浓度大约相当。此法的缺点是电极容易被膜覆盖, 需要经常抛光去膜并容易受其它离子如亚硫酸盐的干扰。因此, 此法对尿液的测定并不理想, 但可以用在其他液体和食品提取物中碘的测定。这项技术虽然并不适合于常规UI测定, 但可以用在评估服用胺碘酮或其他富碘化合物患者的尿液碘过量(437)。因为电极只对碘, 而不对碘化合物起反应, 当存在碘化合物的情况下可以特异地测定碘量。其他许多种技术明显不适合常规临床应用, 包括: 原子核活化分析、或HPLC。另一种广泛报道的方法是ICP-MS (432,438)。已经表明这项技术与传统使用SK定量的消化技术相当一致(432,433)。然而, 所需的设备是昂贵的而且不容易得到。同位素稀释法已经运用于尿液和饮水的分析(402)。用X光荧光法可以体内测量甲状腺内碘含量, 适用于评估胺碘酮诱发的甲亢患者(419)。

准则 55. 尿碘测定

- Technicon自动分析仪在市场上已不再销售, 实验室需要开发自己的手工方法来测量碘化物。
- 如设备到位, 推荐使用质谱法, 是既简单又重复性好的方法。
- 描述了许多结合SK比色的简化消化方法。
- 湿灰化试剂高氯酸和氯酸钾是潜在爆炸品, 使用它们需要昂贵的通风柜。可选用危险较小的过硫酸铵系统。
- 检测其它非尿液样本(如组织、食品)中的碘化物, 可能仍需要传统的干或湿灰化技术。
- 批间分析和批内分析CV应< 10%, 添加碘化物的回收率应该在90%到100%。
- 在工业化国家, 经常要求临床实验室进行尿液碘化物测定以观察碘化物是否超量。可选择上述概论中简单方法之一、或半定量试剂盒。
- 为了推动用于报告尿碘排量统一的浓度单位, UI应用 μg 碘化物/L尿液($\mu\text{g/L}$)表示。

3.7.6 结论

测定组织和体液中的碘, 看来最近短期内不会在常规临床生化实验室起到关键的作用, 然而鉴于全球大量碘缺乏症(IDD)的人群(22亿)以及新近报道的美国、澳大利亚的饮食碘摄入量的减少, 作为流行病学研究的一部分, UI评估仍继续是相当有益和重要的。根据设备和空间现有条件, 参比实验室将毫无疑问地继续应用于干或湿灰化技术。最近推荐实验室“提供多种不同方法, 让用户选择一个最适合特定要求的方法”, 看来使碘测定专业中心化是一个明智的方针。



3.8 甲状腺细针抽吸(FNA)和细胞学检查

成年人中, 可触摸到的甲状腺结节的患病机率随年龄而增长 (在美国平均为人口的4%-7%), 女性甲状腺结节较男性更为常见 (439-441)。成年人中, 95%的结节是良性的。相反, 虽然21岁以下的年轻患者占极少数(0.22% -1.8%), 但是恶性肿瘤的发病率较高 (儿童和成人分别为33%和5%) (442-445)。目前评估甲状腺结节的方法包括: 细针抽吸(FNA)、甲状腺扫描和超声检查。应用准则建议: 初始进行FNA对疾病的诊断更有帮助, 而且成本效益比其他检查法更好(446)。尽管已有这样的应用准则, 一项美国最近的研究报道在1996年, 只有53%甲状腺结节病例使用FNA作为初始检查方法(447)。虽然同位素检查显示为“冷”结节的甲状腺结节被怀疑是甲状腺癌, 但是许多良性甲状腺结节 (囊肿、胶样结节、良性滤泡状病变、增生性结节以及桥本甲状腺炎的结节) 也同样表现为“冷”结节。另外, “热”结节或者那些孤立热结节并不完全抑制TSH, 周围正常的甲状腺组织也不被抑制, 但这些结节也可能是恶性的。逻辑斯蒂logistic回归分析显示适量的细胞学检查材料随结节体积而增加(448)。虽然超声波可用来查出手触摸不到的结节, 但是超声检查并不能分辨病变的良恶性。通常情况下, 超声检查专门用在评估复杂的囊性肿块和难以触摸到的结节(449)。超声检查也用于判断结节的大小以及监视结节的生长, 以及用于验证其他法偶然检出的、难以触及的结节究竟是否存在。超声检查显示为低回声的结节以及抽吸细胞学检查未能获得足量细胞材料应该进行超声引导下的FNA(450,451)。

3.8.1 FNA的指征

所有孤立或明显的结节, 直径>1cm都应该用FNA进行评估。评估甲状腺结节患者时, 相对于甲状腺扫描或超声检查而言, 应首选FNA为初始诊断试验(452)。自从20世纪70年代普及了细针抽吸, 甲状腺外科手术的数量减少了50%, 然而甲状腺结节手术中甲状腺癌患者的百分比却从10%-15%上升到了20%-50%(453)。FNA假阴性结果的频率与穿刺者的技术和细胞病理学家的经验有关(454)。假阴性率低于2% (455)。

准则 56. 甲状腺细针抽吸(FNA)的应用

- 建议对所有可触及孤立结节或明显结节进行FNA, 无论结节大小。
- 对甲状腺结节的初始诊断试验中, 相对于甲状腺扫描或超声检查, FNA应列为首选方法。但是, 预先超声检查可能有助于临床医师进行FNA。
- TSH被抑制或甲亢患者在FNA前需要进行核素扫描。但是扫描的结果不能排除FNA的必要性。
- 同位素扫描发现的“热”结节, 相对于“冷”结节而言, 恶性的可能性小。

3.8.2 提示为甲状腺癌的高危因素

许多因素与甲状腺癌危险性增加相关(456-458)。包括:

- 1) 年龄, < 20或> 40岁
- 2) 结节直径 > 2cm
- 3) 地方性甲状腺腺肿
- 4) 存在远处转移
- 5) 头颈部照射史
- 6) 迅速增大的病变
- 7) 出现声嘶、进行性吞咽困难、或气短
- 8) 有甲状腺乳头状癌的家族史
- 9) 有髓样癌或MEN 2型的家族史

执笔注: 原文logistic 逻辑斯蒂是术语有专论, 有别于logic逻辑。



肿瘤风险评估方案中包含了一些上述的危险因素。TNM分级方案(肿瘤大小、淋巴结肿大, 远处转移)和年龄是评价肿瘤风险的普遍规定。还提出了一些甲状腺特定的分级方法(12)。这些方法为制定有预期疗效(projected outcome)的适当的治疗计划提供必要的客观信息。虽然TNM分级是普遍使用的方法, 但是用于甲状腺肿瘤, 它可能会产生误导。特别指出在非甲状腺癌患者中, 出现淋巴结转移明确地是一种重要的加权因素, 负面影响死亡率。相反, 多发于年轻患者的分化型甲状腺癌并发淋巴结转移或许对于死亡率的影响极小, 但会增加复发的危险。

准则 57. 对临床医师

- 重要的是, 内分泌医师、外科医师、核医学医师和细胞病理学家应在制定长期治疗计划中协同一致地统一肿瘤分期信息, 从而保证治疗的连续性。
- 负责患者长期治疗的临床医师最好能与细胞病理学家一同复习患者的细胞涂片, 并理解细胞病理学家的解释, 为患者建立有意义的治疗策略。

3.8.3 提示为甲状腺癌的低危因素

低危患者可以推迟进行FNA, 这些患者具有以下特征:

- 1) 有自主功能的“热”结节(血清TSH < 0.1 mIU/L)。
- 2) 超声检查到偶发结节, 直径 < 1 cm。
- 3) 表现为孤立结节的孕妇。孕期的FNA可延迟至分娩以后, 并不增加发生DTC的危险(45 9)。如果孕期必需外科摘除甲状腺结节, 可在妊娠4-6个月手术, 减少对胎儿的风险。
- 4) 多发性甲状腺结节, 结节直径 < 1 cm。
- 5) 有波动感的或质地软的结节。
- 6) 桥本甲状腺炎的指征包括体格检查发现坚韧的“橡胶样”腺体、无明显结节但伴有TPO Ab增高。

3.8.4 对推迟进行FNA患者的随访

考虑结节为良性后, 应视确诊的程度制定合适的随访次数(如每6-24个月随访一次)。L-T4抑制TSH的效果各不相同。随访的目标是识别未确诊的或后来是恶性病变的患者, 并最好应用超声检查法监视结节大小, 特别要识别有无进行性增大, 可引起局部压迫症状或美观问题。如果不能进行超声检查, 应该进行仔细的体格检查。可以按以下步骤进行:

- 在结节表面贴上胶布, 并用笔勾画出结节边界, 将胶布纸黏贴到患者的病历中。
- 用尺记录结节的横径和直径。
- 触诊毗邻的淋巴结是否增大。
- 定期测定血清TSH和TPOAb以诊断相伴的临床或轻型(亚临床)甲状腺功能障碍。
- 对不能诊断或者随诊中恶性病的如下症候进行评估:
 - 进行性结节或甲状腺肿大
 - 血清Tg水平上升
 - 局部压迫及侵犯症状(如吞咽困难、呼吸困难、咳嗽、疼痛)
 - 声嘶
 - 气管偏斜
 - 局部淋巴结病变



3.8.5 对实行FNA操作者的标准

必需有抽吸细胞学检查的经验。如果细胞学家或者超声检查医师进行FNA, 必须与临床医师交流相关的信息(460)。为患者实施FNA的临床医师应该能与细胞病理学家一同复习患者的细胞涂片, 并且了解细胞学的结果, 在组织诊断的基础上推荐合适的治疗。理想的是, 为患者进行FNA的医师应该是负责对患者长期治疗的医师, 以保证治疗的连续性。

准则 58. 对实行FNA医师的选择

进行甲状腺抽吸术的临床医师, 应是:

- 技术熟练, 经常进行甲状腺抽吸术者。
- 能了解和解释细胞学结果。
- 根据抽吸结果, 有能力推荐合适的治疗。

3.8.6 进行FNA的技术方面

建议在进行FNA前, 停用像阿司匹林或其它影响凝血的药物数天。使用22-25号针头和10或20 mL的注射器进行FNA, 不论与“枪式接口”连结与否均可。抽吸应该尽量做到微创。有些医师喜欢用1%利多卡因进行局麻, 有些医师则不用。建议至少从两条不同的路径对甲状腺的不同部分进行抽吸, 以减低抽样误差。细胞涂片用Papanicolaou液固定和染色。需要强调的是, 样本必须立刻固定, 避免干燥和干燥的人为误差, 以保持细胞核的微细结构。也可使用快速染色, 例如采用Diff-Quik法。在抽吸同时就要检查涂片以评估样本量是否适合细胞学检查。其他涂片可以在空气中晾干, 然后用乙醇固定再染色(对检测胶体非常好)。剩余物质与穿刺针上淋洗下来的组织小块, 离心沉淀形成细胞块, 包被在琼脂中。细胞块能提供组织学信息, 并可用来进行特殊染色研究。重要的是, 运送到实验室的途中应保护好涂片。交给细胞病理学家的涂片应该附有结节大小、部位、质地等相关的临床详细信息。

通常怀疑坚硬的结节为癌症, 而有波动感或柔软的结节提示为良性过程。如果抽出囊液, 应该记录囊液的量、颜色、是否带血, 同时也要记录穿刺后是否有残存的肿块。如果抽取囊液后尚有残存的肿块, 应该进行再次抽吸。清亮无色的液体提示为甲状旁腺囊肿, 而黄色液体则是典型来自甲状腺滤泡囊肿。抽吸完毕, 应该局部压迫抽吸部位10到15分钟以减少血肿的可能。患者在抽吸部位用绷带简单包扎后可出院, 并嘱咐如抽吸的部位不适时, 可以冰敷。

应用流式细胞仪或免疫过氧化物酶染色常可得到比FNA更多的细胞学信息(见3.8)。凡是颈侧结节是甲状腺组织的几乎都是甲状腺癌(99%), 除非能证明是其他原因引起颈淋巴结肿大!



3.8.7 细胞学评估

如果当地找不到有甲状腺疾病诊断经验的细胞病理学家, 那就有必要将细胞涂片送给外地专家进行检查。将来, 随着远程细胞病理学技术的发展, 细胞病理学样本的电子复查将越来越普及。

准则59. 选择细胞病理学家

- 细胞病理学家应该有兴趣和有阅读甲状腺细胞涂片经验。如果当地找不到有经验的细胞病理学家, 那么应将细胞涂片送给有甲状腺诊断经验的外单位的细胞病理学家进行细胞学复查。
- 如有要求的话, 细胞病理学家应该与患者的主诊医师一同阅读涂片。

3.8.8 特殊组织染色

在以下情况, 特殊组织染色能有帮助:

- 1) 当难以确定肿块的性质究竟是恶性的, 还是甲状腺来源的时候, 采用对Tg、TPO (MoAb 47)、半乳凝素-3 和 CEA的特异性抗体染色法 (461-466)。
- 2) 对于可疑淋巴瘤的患者, 应用B细胞免疫分型。
- 3) 未分化/退行性甲状腺癌--进行波形蛋白、P53、角蛋白染色。
- 4) 怀疑为甲状腺髓样癌--进行降钙素、神经元特异性烯醇化酶、嗜铬粒蛋白和/或生长抑素染色。

3.8.8 诊断分类

有些细胞病理学家相信: 必须在2张不同的涂片上, 每张涂片至少要有6簇滤泡细胞, 每簇细胞数量在10-20个, 才能正确地报告甲状腺病变是良性的(466-468)。但是只要存在恶性的细胞特征, 从极少数细胞就可以作出恶性病变的细胞学诊断。

准则60. 细胞病理学特征

甲状腺细胞学的判读是困难的, 并具挑战性。涂片上的组织量取决于抽吸的方法(超声引导与手工相比)。应该评估:

- 是否存在滤泡 (微滤泡或者大小不一的滤泡)
- 细胞大小 (一致或者大小不一)
- 细胞染色特征
- 组织极性 (只针对细胞团)
- 是否存在细胞核沟和/或空核
- 是否有核仁
- 是否存在胶质及其类型 (水样并稀薄流动或者黏稠)
- 有无滤泡细胞或Hurthle单一细胞群
- 有无淋巴细胞



3.8.9.1 良性病变(~ 70% 病例)

提示良性病变的临床表现(但不排除FNA的必要性):

- 1) 突发疼痛, 提示良性腺瘤出血或囊肿, 而触痛敏感的非坚硬肿块提示亚急性肉芽肿性甲状腺炎, (但是恶性肿瘤内部出血也表现为突发疼痛)。
- 2) 症状提示甲亢或自身免疫性甲状腺炎(桥本甲状腺炎)。
- 3) 有良性结节、桥本甲状腺炎或其他自身免疫性疾病的家族史。
- 4) 光滑、柔软、活动度好的结节
- 5) 多发性结节(没有明显肿大的结节)
- 6) 位于舌骨中线, 随伸舌/吞咽上下移动的结节可能是甲状舌管囊肿。

提示为良性病变的细胞学检查和或实验室检查, 包括:

- 1) 充满大量水样胶质
- 2) 泡沫样巨噬细胞
- 3) 囊肿或实性结节的囊性变
- 4) 增生性结节
- 5) 血清TSH异常
- 6) 淋巴细胞和/或高TPOAb(提示桥本甲状腺炎, 或少见的淋巴瘤)

准则61. 对实验室和临床医师

- 除常规细胞学检查以外, 实验室还应该针对特殊病例提供CT、Tg、TPO 或半乳凝素-3 特异性免疫过氧化物酶染色。(如有必要, 外送到其他实验室)。
- 实验室应把所有涂片和组织块存档, 为患者进行“托管”, 有需要时, 有材料可供其他专家咨询再检查。
- 细胞病理实验室应该对FNA报告标准化。最简单的方法是使用4类诊断分类: (1)良性, (2)恶性, (3)不可确诊的/可疑的, 以及(4)样本不满意/份量不足。这有助于在诊断治疗结果方面, 对不同实验室的结果进行有意义的比较。
- 细胞病理实验室应该提交他们FNA分析的真/假阳性率、和真/假阴性率, 和临床医师共享FNA结果的分析。

准则62. 良性疾病患者的随访

- 有些人主张在几个月后进行第二次FNA, 以证实前次的结果。
- 另一些人主张第一次检查所取的组织适当, 则不反复进行FNA, 假如结节直径小于2cm, 在一年随访过程中体积稳定, 这种情况下, 进行每年一次的体格检查随访, 测量结节大小, 建议最好进行超声检查。如果没有超声检查, 可以通过胶带或尺测量结节大小的变化。
- 建议对增大的病灶和临床可疑为恶性的结节, 应该再次抽吸。



良性情况包括, 但不限于以下情况:

- 1) 单纯性甲状腺肿
- 2) 多发结节性甲状腺肿
- 3) 胶体样结节*
- 4) 胶样囊肿*
- 5) 单纯性囊肿*
- 6) 退行性胶样结节
- 7) 桥本甲状腺炎
- 8) 增生性结节

*常为缺少滤泡细胞的不合格的细胞学样本

3.8.9.2 恶性病变(~ 5%-10%病例)

对于甲状腺恶性病变的最佳手术程度一直存在不同意见。在大多数美国临床中心, 由有经验的外科医生进行甲状腺近全切除或全切除术是最佳选择。而在欧洲, 则有不同意见(469)。当选择经常进行甲状腺手术的外科医师时, 并发症的危险较低。

(i) 乳头状癌(~80% 恶性病变)

这个分型包括混合型乳头状滤泡细胞癌和变异型, 例如高细胞变异型和硬化变异型 (组织学诊断)。

细胞学/组织学: 具备下述2项或2项以上特征的, 提示为乳头状恶性变:

- 1) 细胞核包涵体, 核“空泡”、“毛玻璃样”、或“orphan annie”(孤女安妮型)核。
- 2) 核“沟”(较多)
- 3) 核重叠
- 4) 沙样瘤(罕见)
- 5) 具有纤维血管核心的乳头状突起
- 6) 条索状“陈旧性的”胶质

(ii) 滤泡状或Hurthle细胞新生物(~20% 恶性病变)

这类病变的诊断分类表现为可能与恶性肿瘤相似的细胞学改变, 但不能作为诊断依据(457,470)。提示病灶为恶性的因素包括: 男性、结节体积>3 cm, 以及年龄>40岁(470)。确诊需要对结节进行组织学检查证明已侵犯到包膜或血管。一般不提倡再次抽吸, 因为它不能提供有用的信息。迄今尚无遗传基因、组织学或生化试验可以常规使用以区分此类病变的良、恶性。为了区分病灶为良性还是恶性, 需要多位检查者用适合的标记物在FNA样本中来显示。一些研究提出: 用单克隆抗体MoAb47检测到TPO表达比单独用FNA细胞学更加提高了组织学确诊良性病变的特异性(免疫检测到TPOAb与单独细胞学检查相比, 分别为83%和55%) (461,462)。最新发现: 半乳糖凝集素-3是一类和 β -半乳糖结合的蛋白, 在所有滤泡细胞来源的甲状腺恶性病变(包括乳头状、滤泡状、Hurthle细胞和未分化癌)中高度和广泛表达, 但在良性条件下极为少见(463-466,471)。大多数外科医师相信: 对滤泡状癌或Hurthle细胞新生物的患者, 在术中进行冰冻切片对于鉴别良、恶性病变价值很小(472)。如果组织学样本有侵犯包膜或血管浸润表明为恶性病变, 有时在进行了单侧甲状腺切除后的4-12星期内, 还需要追加甲状腺全切术。近期研究发现: 根据明确的组织形态学特征, 可以预测Hurthle细胞癌患者的预后(473)。



细胞学/组织学: 提示滤泡状或Hurthle细胞恶性变的特征, 包括:

- 1) 极少量的流动胶体
- 2) 高密度的滤泡细胞或Hurthle细胞群
- 3) 微小滤泡

细胞学: 这些病损可以报告为:

- 1) "Hurthle细胞新生物"
- 2) "可疑滤泡新生物"
- 3) "滤泡新生物/病变"
- 4) "不能决定的" 或 "无法诊断的"

(iii) 髓样癌(1%-5% 甲状腺恶性病变)

有甲状腺髓样癌或2型多发性内分泌腺病(MEN)家族史的患者, 应怀疑为这类甲状腺肿瘤(见3.6)。

细胞学/组织学: 提示为这类恶性病变的特征, 包括:

- 1) 核偏心的梭形细胞
- 2) 降钙素染色阳性
- 3) 存在淀粉样变
- 4) 核内包涵体(常见)

(iv) 未分化癌(<1% 甲状腺恶性病变)

这类甲状腺癌一般只发生于老年患者, 表现为甲状腺肿块的快速增大。这类患者通常已有多年无痛性甲状腺肿块。必须鉴别未分化癌和甲状腺淋巴瘤(注), 因为对未分化癌的治疗方法非常有限, 而甲状腺淋巴瘤却有治疗方法。

细胞学/组织学: 提示为这类恶性病变的特征, 包括:

- 1) 细胞极度多形化
- 2) 多核细胞
- 3) 巨大细胞

(v) 甲状腺淋巴瘤(罕见)

年老患者甲状腺肿块的迅速增大提示该病, 通常伴有桥本甲状腺炎。

细胞学/组织学: 提示为这类恶性病变的特征, 包括:

- 1) 形态单一的淋巴样细胞
- 2) 阳性的B细胞免疫分型



3.8.10 不足量/未诊断的FNA (~5% 到 15 %)

如果样本处理和制备不合格, 或FNA未能抽吸到适当量的细胞物, 就不能得到细胞学的诊断。样本量不足不能诊断的主要原因是: 进行穿刺的医师经验不足、穿刺时抽吸的次数不够、肿块的大小、或是存在囊性病变。适量的FNA样本定义为: 在2张不同的片子上至少要有6簇滤泡细胞, 每簇细胞数量在10-20个(467)。当涉及到小结节时, 应在超声引导下进行再次FNA。在此类患者中, 超声引导下的FNA将不合格的样本发生率从15%-20%降到3%-4%(215,450,451,474,475)。超声引导的FNA也适用于<1.5cm的结节和囊性(复合性)结节, 以保证穿刺到固态成分; 胸骨后后位或高位甲状腺结节、或其他难以触摸到的结节, 尤其是肥胖、肌肉发达、或体型高大的患者(215,450,451)。针对多发性结节性甲状腺肿中的几个主要的结节, 应该在超声引导下进行FNA, 以保证抽吸到临床上更可疑的结节。

准则 63. 不足量/未诊断FNA的患者

- 对于小结节进行重复FNA, 通常可以得到足量的细胞材料进行诊断。最好在超声引导下, 再次进行FNA。超声引导下的FNA将不合格的样本发生率从15%-20%降到3%-4%。
- 超声引导的FNA也适用于<1.5 cm的结节和囊性(复合性)结节, 以保证抽吸到固态成分; 胸骨后后位或高位甲状腺结节、或其他难以触摸到的大于1.0cm的结节, 尤其是在肥胖, 肌肉发达, 或体型高大患者。应该在超声引导下针对多发性结节中主要(即最明显)的几个结节进行活检。



3.9 先天性甲减的筛查

先天性甲减(CH)的患病率(约1:3500新生儿)比中枢性(垂体性或下丘脑性)甲减(约1:100,000)要高。在某些族群中患病率更高,在世界上缺碘地区,患病率也增高(476,477)。过去的25年中,开展了滤纸全血斑法筛查CH,用TT4法或TSH法作为初次筛查试验。在发达世界,这样的试验作为多种遗传疾病筛查试验中的一部分已经成为现实。为了使效率最大化,筛查计划常中央化或区域化,严格按照有关准则进行操作并且需要执照。美国儿科学院在1993年颁布了CH筛查的准则,欧洲儿童内分泌学会1993年颁布,并在1999更新(478-480)。

参与试验的实验室可以是私有的,也可以是国家政府管理的,不论属于什么性质,必须设置具有可接受的质量保证方案和参加精通能力比对试验。

由发育不全、发育不良引起的甲状腺生成障碍或异位甲状腺是先天性甲减的最常见原因,约占现有病例的85%(12)。一些筛查中心报道了TSH受体发生失活性突变,但其患病率不明。与TSH抵抗相关的表型是多种多样的,但大致可分为两类:部分性的或严重性的。那些由于部分性TSH抵抗而造成TSH升高者的甲状腺功能正常,TT4正常并不需要采用L-T4替代疗法。有证据表明,甲状腺激素抵抗综合征会分泌高生物活性的TSH亚型[见3.3.4.7(ii)](244)。其他CH的罕见病因(6名患者)是编码甲状腺转录因子的基因(TTF-1, TTF-2 和 PAX-8)之一发生了一个突变。这些因子在控制胎儿的甲状腺的形态发生、分化和甲状腺正常发育过程中起着关键的作用。它们与Tg和TPO的启动子结合以调节甲状腺激素的生成。

准则64. 筛查新生儿先天性甲减的实验室

- 只有对自动化免疫测定方法、信息技术方面具备经验、和有计算机备份,并有经过适当培训的工作人员实验室才可以承担进行大量的CH筛查工作的责任。

需要对母亲和胎儿之间的相互作用有正确理解,才能对新生儿甲状腺功能做出正确的判断。碘、促甲状腺激素、释放激素(TRH)、抗甲状腺药物和IgG抗体很容易地通过胎盘。TSH和T3就不能通过胎盘。与以往看法不同,现在认为在新生儿筛查查出之前,母亲的相当数量的甲状腺素可以通过胎盘去保护因为缺乏甲状腺素而发生甲减的胎儿(481)。紧随出生,在新生儿第一个24h内,体内的TSH含量迅速增长,这大概是对寒冷的反应。足月产新生儿出生后的48小时内,循环甲状腺素要比成人水平高1-2倍(足月儿24h循环甲状腺素是成人水平的2-3倍),然后在生后的5-6日内稳定并回复到脐带血的水平。早产儿的反应就不太显著,并与不成熟程度呈反比。整个婴儿期,循环T4和TSH的浓度始终高于成人水平,在儿童期下降,并在青春期后达到成人水平(表3)(42)。

3.9.1 CH筛查实验室所需要达到的标准

只有对自动化免疫测定方法、信息技术方面具备经验,和有计算机备份,以及有经过适当培训的工作人员实验室才能承担对CH进行筛查的责任。新生儿筛查计划依赖于从相对广泛地区得到大量的样本。相对于分析检测的速度而言,样品运送的物流,即邮递转运时间、在妇产科病房延误邮递、以及得到结果后拖延采取措施,样本运送的后勤是比识别有CH风险婴儿的分析试验速度更为显著的时间限定因素。筛查工作应该建立在每日工作的基础上,这样可以立刻得到结果并立即采取行动。应尽快地开始治疗,最好是在出生后头2周龄内。



对每年应该筛查新生儿的最低数量存在着争议, 这个数量取决于下列因素: 即要有适当数量的阳性病例以达到最佳的分析效能, 还并且有较高数量的检测以实现成本效益。筛查计划应该保证对阳性结果的婴儿进行随访检测, 还要能随时咨询有经验丰富的诊断甲状腺疾病专长的医师。实验室应该追踪和严格地控制假阴性率和假阳性率。为了达到正确的诊断和治疗, 应该有专业的儿科内分泌专家追踪检测来保证。

3.9.2 筛查策略

筛查方法应该是低成本而且容易执行。

绝大多数CH筛查计划都采用从滤纸血斑洗脱的血液, 血液采自婴儿足跟穿刺。检测滤纸血斑洗脱液中, 甲状腺激素的分析试剂一般都需进行一些修正, 才能用于进行此检测的各种自动化免疫分析平台。已进步到采用两种不同途径筛查血斑样本中甲状腺激素, 或者检测TT4水平, 或者TSH水平。无论哪种检测, 得到的结果都应该用年龄调整过的参考值范围进行判读(见表3及准则3)。

准则65. 对进行新生儿和婴儿甲状腺检测的实验室

- 必须分别报告新生儿甲状腺检测结果, 和妊娠期以及年龄特定的参考值区间。
- 每个实验室都应该根据所用的方法, 制定其自己的判断值水平(cut off level)。

3.9.2.1 首选TT4和反应TSH辅助检测

大多数北美国家的筛查计划都采用首选TT4检测, 当样本的TT4水平较低时(往往低于第10百分位), 加测样本中的TSH(反应TSH检测)。历史上, 采用此法是因为: 早期TT4测定的时间比TSH测定时间短很多, TT4试剂盒测定值更加可靠, 可在新生儿早期(一般在1-2日龄)进行筛选, TT4的检测成本也低于TSH。虽然可以测定血清FT4, 但是由于滤纸血斑的血样量少, 以及由于样本洗脱引起的高度稀释, 都限制了灵敏度, FT4方法一般不适合用于筛查(482)。首选TT4筛查方法具有一定优势, 尤其适用于需在新生儿早期采样的筛选计划。TT4还不易受到切断脐带后出现的TSH迅速增高并持续24小时的影响。这二个因素提示: 如必需在早期(<24小时)测试时, TT4筛选只有较少的假阳性。此外, 首选TT4方法可以查出罕见的中枢性甲减, 而用首选TSH方法会漏诊。

首选TT4方法的缺点是: 难以制定一个低的TT4的判断值(cutoff value)以使假阳性最小, 又难以制定一个略高于上述低值的判断值以检测出异位甲状腺的CH婴儿(这些患儿的TT4往往大于第10百分位)。此外, 低TT4但TSH正常的现象还见于一些其他情况: (a)下丘脑垂体性甲减, (b)甲状腺素结合球蛋白, (TBG)缺乏, (c)早产儿, (d)疾病, 或(e)TSH增高延迟。当执行继发或三发性甲减患儿的随访计划时, TT4筛查在19例中只检出8例, 7例在筛查前就已临床诊断, 另外4例虽然筛查时TT4浓度低, 但是失访了(483-485)。TBG缺乏不产生临床后果, 治疗这种情况是禁忌的。TT4筛选也适用于极低体重新生儿(<1500g), 在通常的筛查时段中他们的TSH正常, 只在几周后TSH开始升高。但是, 早产儿比足月新生儿更经常地见到明显较低的TT4值(482)。



3.9.2.2 首选TSH检测

欧洲和世界大部分国家都采用TSH作为CH的首选筛查检测。在缺碘地区, 首选TSH筛查比TT4筛查更有优势, 因为婴儿较成人对缺碘更为敏感, 这些新生儿血斑中高TSH的发生频率增加。TSH筛查还有可能监测新生儿群体中的碘的供应, 尤其许多欧洲国家仍然缺碘(486)。此外, 目前TSH和TT4试剂价格已几无差异。

不同的筛选计划使用不同的TSH判断值(cutoff value)以召回阳性者。有一个计划采用二次分层法(487)。准确地说, 如婴儿大于2日龄而且他的初次全血斑点TSH结果 $<10\text{mIU/L}$ 全血单位, 无需进一步随访。如果TSH结果在10到 20mIU/L 全血单位之间, 则从婴儿采取第二次血斑。大部分重复样本中TSH正常。但是如果 $\text{TSH} > 20\text{mIU/L}$ 全血单位, 召回这些婴儿, 由儿科咨询医师进行评估, 并在血清样本中进行其他甲状腺功能试验。对于出生48h以内采集的样本, 则需要采用与其日龄相适应的判断值(482)。这样的做法确保了能随访检出即使只以轻度TSH增高为表现的最轻度甲减患儿, 然而它也产生了较多的假阳性结果, 必需通过系统随访。虽然大多数TSH结果 $>20\text{mIU/L}$ 是由于CH, 但是非常重要是要排除母体服用抗甲状腺药物或在分娩时使用了含碘的消毒剂, 引起一过性的TSH增高。

准则66. 早产儿和早出院的新生儿

切断脐带后TSH迅速升高并持续24h, 而早产儿的此段时间可能后延, 如果在婴儿出生后的24h内检测, 可能引起更多的假阳性TSH结果。

- 用TSH法筛查早产儿时, 建议在出生后2-4周再采取第二个样本, 因为部分早产儿的TSH高峰延后, 可能由于早产儿的垂体-甲状腺反馈机制不成熟而引起。
- 首选TT4方法对极低体重儿或者只在出生24h内进行筛查时具有优势。

3.9.3 血斑测TSH

血斑样本的TSH测定可以用血清单位报告, 如北美计划将全血校准品转换为血清值, 或用全血单位报告, 如欧洲计划。用后一种方法(全血单位报告)的TSH绝对值显著低于前者, 因为部分血斑体积被红细胞占据。在过去, 报告的差异曾经引起混淆至今仍未解决。用全血单位必需增加30%-50%数值来接近血清单位; 编者注: 因而需要将全血单位乘130%-150%才能接近于血清单位。

准则67. 碘缺乏国家

- 在轻度或中度缺碘国家, 推荐首选TSH检测, 优于首选TT4法加反应TSH辅助检测。

CH筛查试验的血斑测定TSH要求在直径小到3-4mm。新的“第三代”TSHIMAs功能灵敏度提高到 0.02mIU/L , 非常适合用于此目的[见2.3]。然而由于认为这是一个专业的、有限的市场, 并非所有的制造商都开发了血斑TSH测定方法。应用非同位素信号, 例如时间分辨荧光微量滴定板的方法很适合用于测定血斑样本, 并且已经广泛使用。这些系统的优点在于血斑的洗脱在微量滴定板的孔中进行, 样本中全部的TSH得以与微量滴定板孔上的单克隆抗体结合。



其他不采用微量滴定板模式的自动化系统也可成功地用于血斑TSH检测。这些系统通常需要对血斑TSH进行脱机洗脱, 并将洗脱物作为自动免疫分析仪的样本。这些系统具有优点: 可以在20 min内得到结果, 并有高通量(throughput, 单位时间内完成的测试), 1h有180个试验结果。此外, 这些系统还配有对样本的阳性确认, 将结果增高的血斑更可靠地识别为阳性的患者。设计了一种自动滤纸血斑打孔机, 可将患者的唯一确认数码的条形码放在洗脱管或微量滴定板上, 并在打孔前先阅读。相同的确认患者的号码又打印在患者的滤纸卡上。自动免疫分析仪阅读了洗脱管上的条形码, 如果事先已输入, 然后将结果打印或下载到实验室的主电脑里, 与确认患者的独特号码相一致。对于那些没有自动化的实验室, 仍适用抗体包被试管测定TSH, 但不能达到高通量的自动化。

准则68. 新生儿血斑TSH筛查的性能标准

- TSH检测的功能灵敏度应至少为1.0 mIU/L。
- 理想的批间变异系数应<10%, 并且不超过20%。
- 批内质控样本应该覆盖可报告范围, 并必须包括在每个批次中。
- 至少采用一个其他TSH试剂生产厂提供的质控物。
- 标准品应该是全血, 和测试的样本一样。
- 样本、标准品和质控品采用相同的滤纸。
- 必须参与国家和/或国际的实验室间质控计划(见附录 B)。

3.9.4 样本采集

足跟穿刺滤纸采血的技术是至关重要的。只能采用达到NCCLS标准的滤纸["Blood on Filter Paper For Neonatal Screening Programs" Approved Standard - Third Edition. LA4-A3, Vol 17 N° 16, October 1997. National Committee for Clinical Laboratory Standards] (488)。需要一个继续培训计划, 书写清楚的操作步骤方案以及建立采集合适样本的标准。

准则 69. 大于2日龄新生儿筛查的TSH判断值

报告值需注明是全血单位或是血清单位。需要提高全血单位30%-50%才能接近血清单位。
(编者注: 因而需要将全血单位乘130%-150%才能接近于血清单位。)

- 首选血斑TSH<10mIU/L全血单位 - 无需进一步检查。
- 首选血斑TSH 10-20 mIU/L全血单位- 对第二份血斑重复试验。
- 首选血斑TSH >20 mIU/L全血单位- 召回新生儿, 由儿科内分泌医师进行评估。

采样时间取决于新生儿其他筛查计划的需要, 以及样本在医院还是在家中采集。在欧洲, 一般在出生后48h到出生后8天之间进行采样, 具体时间取决于当地情况。在美国迫于经济原因, 鼓励产妇早期出院, 多数筛查计划在出生后48小时内采样。采样时间对首选TSH方案比对首选TT4影响更大, 因为切断脐带时TSH会突然升高。大多数婴儿升高的TSH会在24小时内恢复正常, 但有些婴儿TSH水平会持续升高长达3天之久。对于早产儿, 建议在第一次采样后, 2-4周内再采集第二次血样, 因为在某些病例, 可能由于垂体-甲状腺反馈机制的不成熟造成TSH水平升高的延后(489)。



3.9.5 确认试验

检测滤纸血斑并无诊断价值, 只有筛选价值, 异常结果必须用常规定量方法确认! 确认试验的血样应该采自静脉。在一些国家, 还同时采集母亲的血样以检查母亲的甲状腺功能。准确地说, 诊断为甲减的母亲(即使接受足量的L-T4替代治疗时), 如体内存在TSH受体阻断性抗体(TBAb/TSBA b), 能引起婴儿的一过性甲减(1:180,000 新生儿)(301, 490)。

准则70. 滤纸洗脱液检测

- 滤纸洗脱液的检测并不具有诊断性。所测的值最多只是半定量的, 有助于认定可能患有先天性甲减(CH)者。任何异常的新生儿筛查结果必须用血清甲状腺定量试验加以确认。

欧洲的一些筛查计划提倡随访母亲和婴儿的血清FT₄、TSH和TPOAb。重要的是要注意, 血清FT₄和TT₄水平在新生儿期较高, 所以患轻度甲减婴儿的结果靠近边界值的需要与特定的年龄相关的甲状腺试验参考值范围进行比较(表3)。

CH筛查计划的目的是要查出CH, 并加速进行尽可能早地(在14天内)甲状腺激素替代治疗。但是, 也应进行附加的试验以决定CH的病因, 以决定疾病是暂时的还是永久的, 或是基因引起的(需要遗传咨询)(表11)。有些检查需要在开始L-T₄治疗之前进行, 而另一些可以在治疗过程中进行。由于母体TBAb/TSBA b可通过胎盘传递给婴儿引起的一过性甲减, 适合用L-T₄治疗, 因为婴儿有阻断抗体, 抑制TSH的作用引起FT₄浓度降低。(301, 491)。依据抗体量多少, 抗体在3-6个月期间降解, 这样L-T₄治疗可以逐渐停止。母亲再次妊娠时, 应该监测她的甲状腺抗体状况, 因为抗体可以持续存在多年(492)。

在诊断CH时, 许多病例难以确定甲减是暂时性的还是永久性的。提示暂时性甲低的线索包括: TSH水平低于100mIU/L、男性、假性甲状旁腺功能低下、早产儿、碘过多或给药多巴胺(484)。在这种情况下, 最好按他/她们是永久性甲减来管理患者(493)。如果到了2岁仍然诊断不明确, 应该停止L-T₄治疗一个月, 并进行一系列FT₄和TSH的测定监测患儿。

准则71. 异常筛查试验(TT₄或TSH)的确认检测

- 新生儿的确认血样应抽自静脉。
- 欧洲的一些筛查计划提倡不仅在婴儿中开展随访检测, 在某些情况下还要使用FT₄、TSH和TPOAb测定来检查母亲甲状腺功能状态。
- 检查母亲是否存在TSH受体阻断抗体。
- 对新生儿TT₄和TSH的检测, 使用方法和年龄特定的参考值区间。



3.9.6 CH的病因学试验

能用于CH诊断和调查病因学的试验见表11。申请这些试验通常是儿科内分泌医师的责任,而不是筛选计划。甲状腺核素扫描可用于证实甲状腺组织的存在和定位。要检查有功能的残存甲状腺组织,血清甲状腺球蛋白(Tg)检测比核素扫描更加敏感,在有些核素扫描无摄取时,患者血清甲状腺球蛋白测定的结果可能是正常的。决定是否存在甲状腺组织的最好方法是超声检查,在L-T₄治疗后仍可进行,因为不是在任何地方都能进行¹²³I核素扫描。许多病例在核素扫描中显示为无摄取,而用超声检查清楚显示存在甲状腺组织。在这些病例中,检测应该面向明确是否存在先天性T₄合成障碍(~10%)或只是一过性引起的,例如通过胎盘传递获得了TSH受体阻断抗体(301, 491)。

高氯酸盐排泌试验的反应>15%提示为先天性碘代谢障碍。专科医师中心可提供的试验包括:尿碘测定、特异基因变异试验,例如钠/碘同向转运子、TPO或甲状腺球蛋白(494)。较常见的为碘的氧化和有机化和耦合的缺陷,是由于TPO突变引起的。甲状腺球蛋白(Tg)基因的突变产生异常的甲状腺球蛋白合成,引发蛋白水解和T₄分泌缺陷。脱碘酶基因的突变也引起脱碘酶的缺陷。

准则72. 一过性先天性甲减(CH)的检出

*CH可能是一过性,由通过胎盘传递的TSH受体阻断抗体所引起,
建议在2岁时对全部病例重新评估其诊断。*

- 应该在2岁时,采集血样进行基础血清FT₄/TSH的检测。停用L-T₄,在2周后及3周后,分别2次测定血清中FT₄/TSH。几乎100%患真性CH儿童在治疗停止后2周,都有升高的TSH水平。

表11. 评估CH的诊断性试验

用于确定诊断:

婴儿: TSH
FT₄

母亲: TSH
FT₄
TPOAb

用于确定病因学:

婴儿:

o 用以下方法之一决定甲状腺的大小和位置:

- 超声检查(新生儿)
- 同位素扫描 - ^{99m}Tc或¹²³I

o 功能检查:

- ¹²³I摄取率
- 血清甲状腺球蛋白(Tg)

o 怀疑先天性T₄产生障碍:

- ¹²³I摄取和高氯酸盐排泌试验

o 怀疑碘过多或碘缺乏:

- 尿碘测定

母亲:

o 如存在自身免疫性疾病:

- TSH受体抗体(TRAb)

(如母体中存在,还要测试婴儿)



3.9.7 先天性甲减患者的长期监测

大多数CH婴儿和儿童都具有正常垂体-甲状腺负反馈调控, 虽然T4和TSH阈值定得较高(表3) (43)。诊断为CH婴儿和儿童在出生后二年应该经常监测, 以TSH为首选监测试验, FT4为辅助参数, 并使用年龄参考值区间(表3) (40)。在美国, 调节L-T4替代疗法剂量, 要在治疗后的2周内将TSH降低到20mIU/L以下, 并使循环T4上升到参考值范围的上半the upper half水平($>10 \mu\text{g/dL}$ [编者注: 指TSH] 和129 nmol/L[编者注: 指T4])。通常婴儿维持在剂量10-15 $\mu\text{g L-T4/kg}$ 体重, 每1-2个月监测TSH和T4水平。在欧洲, 使用固定的L-T4剂量50 $\mu\text{g/d}$, 只要可能, 应在第2周后和以后的每个月测定T4和TSH。经验表明, 在给药的最初2年内, 不需要调整此剂量。频繁地改变剂量, 按公斤体重最大剂量可能造成治疗过度(493)。

少数患儿在治疗CH中, 表现不同程度的垂体甲状腺激素抵抗, 表现为与他们占优势的血清FT4浓度相比, 血清TSH相对地升高了。这种抵抗随着年龄的增长而改善(43)。在罕见病例, 一过性甲减可能是由于通过胎盘的TSH受体阻断抗体而造成的(282,301)。建议所有病例在2岁后对CH诊断进行再评估。准确地测定停药前基础血清FT4/TSH后, 停止L-T4治疗, 在第2周和第3周后, 分别再2次测定血清中FT4/TSH。几乎100%患真性CH儿童在停止治疗后二周, 有明显TSH升高。

3.9.8 漏诊病例

没有任何生化试验是100%诊断和在技术上准确的。一项对在2周龄筛查进行检查的研究显示: 首选TT4法的漏诊率为7%, 首选TSH法的漏诊率为3%。建议要说清假阴性筛查结果的临床、财务和法律的复杂后果, 并是否如一些计划所希望的, 在2周时应该实行强制性再次检查。

准则73. CH婴儿的治疗和随访

- 在欧洲, 使用固定的50 $\mu\text{g/d}$ L-T4剂量, 以减少频繁改变治疗剂量造成治疗过度的危险。
- 在美国, 治疗以10-15 $\mu\text{g/kg/d}$ L-T4剂量初始。目标是在治疗一周末将循环T4水平超过10 $\mu\text{g/dL}$ 。
- 出生后的第一年中, TT4通常维持在正常参考范围的上半the upper half水平(治疗目标为10-16 $\mu\text{g/dL}$ 或127-203 nmol/L), 如果测定FT4, 治疗目标在1.4-2.3 ng/dl 之间(18-30 pmol/L), 具体数值根据参考值范围而定(表3)。
- 在出生后前两年内, 应经常监测确诊为CH的婴儿和儿童, 以血清TSH为首选监测试验, FT4为辅助检查, 并使用特定年龄的参考值区间。
- 出生的第一年内, 每1-2个月应进行一次监测, 第二年每1-3月进行一次, 随后第三年就3-6个月进行一次, 直至发育完成。
- 如果循环T4水平一直偏低, 即使逐渐加大L-T4的替代剂量, 血清TSH仍然很高, 重要的是, 要首先排除顺应性差的可能性。
- 替代疗法反应失败的最常见原因是受误用以大豆为基础配方的干扰。L-T4不应该与任何以大豆为基础的物质以及含铁的药物一同给药。



3.9.9 质量保证

所有筛查计划都应该具备一个持续的审查系统, 并公布审查结果的年度报告。用这种方法就可以依照国家质量标准对筛查的每一个方面进行评估。虽然通常情况下实验室都能符合所加入质量保证计划的质量标准, 但是对筛查的分析前和分析后阶段关注不够。质量保证计划应说明以下每一阶段:

- 分析前阶段
 - 培训采样人员
 - 贮存并定期向实验室提供滤纸
 - 将滤纸样本的识别与分析结果连结起来
- 分析阶段
 - 设备的维护和服务
 - 滤纸结果的批内质量控制
 - 参加国家或国际批间质量评估
- 分析后阶段
 - 协调对异常试验结果的随访
 - 确定试验的应用范围
 - 适当保存样本和归档, 以供随后的检查

3.9.10 年度报告

年度报告应该包括审查的项目, 以及一份对过去12个月CH筛查工作的全面报告。报告应该观察TSH升高血样的分布情况, 并应有一个系统报告所有真性CH病例, 和记录一过性TSH升高的病例。这个系统还能提供每一个漏诊患者的情况。一个有效的筛查计划依赖于筛查实验室、儿科医师、内分泌学家以及所有与筛查过程有关人员之间的紧密合作。

准则74. 对临床医师

- 临床表现与实验室试验结果相悖时, 需要进行复查!
- 筛查时潜在的隐患无处不在, 没有一个实验室可以幸免!
- 保持高度警惕性。尽管具备一切保护措施和自动化设备, 筛查计划仍然有时会漏诊CH患儿。不要被实验室的甲状腺功能试验结果的正常报告所蒙骗, 产生虚幻的安全感。



4. 实验室与临床医师交流的重要性

临床医师需要有高质量的实验室支持, 才能对甲状腺疾病患者做出准确的诊断和成本效益管理。实验室需要提供能准确诊断和成本效益好的检测方法。诊断准确与成本效益常发生冲突。成本效益和治疗质量要求: 实验室服务不仅要满足大多数的需要, 还要能满足那些有不寻常甲状腺问题的少数患者的需要, 这些患者对现有甲状腺试验的诊断准确性提出了挑战。大多数有关“成本效益”的研究, 未把下列费用计算入内: 不恰当的管理导致的人力和财务费用; 对不寻常甲状腺疾病患者的不必要的重复和不需要的检验。为得到准确的诊断, 这些不典型的表现不成比例地消耗掉大量实验室资源(191)。一些不寻常的临床表现包括: 结合蛋白异常影响了FT4估值试验; Tg自身抗体(TgAb)的存在干扰血清Tg的测量; 药物影响甲状腺激素在体内外的代谢; 严重的NTI会对甲状腺试验结果产生千变万化的作用。

准则75. 对实验室和临床医师

- 重要的是, 临床实验室科学家与使用他们实验室服务的临床医师开展积极的合作, 对有疑问的患者群选择具有最恰当特性的甲状腺试验。
- 实验室和临床医师积极的交流, 保证了按合理的顺序应用高质量、符合成本效益的检验, 来评估异常甲状腺疾病的表现, 以及调查不协调的甲状腺试验结果。

重要的是, 临床实验室检验师要与用他们实验室的临床医师积极合作, 为临床提供服务, 对有疑问的患者群体选择具有最恰当特性的甲状腺试验。例如, 实验室主要为门诊患者服务时, 非甲状腺疾病(NTI)对FT4检测方法的影响就显得不很重要。

反之, 对医院实验室非常重要的是: 在住院患者中, 准确地排除甲状腺功能紊乱。对一般的实验室结果来讲, 药物及其他的干扰因素的影响超过10%, 甲状腺检验也不例外(67,68,98)。随之, 临床实践中常会出现不一致的甲状腺结果。这些不一致的甲状腺试验结果需要非常仔细地判读, 需要测定试验结果的临床实验室科学家与管理疑似或确有甲状腺疾病患者的临床医师之间进行相互合作。

4.1 临床医师对他们的临床实验室应该期望什么

临床医师依靠实验室提供准确的检测结果, 协助调查不一致的试验结果, 不论这些试验是在本地或其他参比实验室进行。尤其重要的是: 实验室应提供药物相互作用资料、参考值区间、功能灵敏度和检测值的范围、以及影响所用方法的干扰因素。实验室应避免频繁地或未经宣布地改变测定方法, 在开始改变新的甲状腺检查方法前, 与临床医师紧密配合。当实施新方法时, 实验室还应与临床医师合作制定临床验证数据, 以及提供资料说明新老试验方法之间的良好关系, 如果有要求, 还需要提供转换系数。反应检测策略(如FT4升高加测FT3, 或TSH异常加测FT4)的诊断价值和成本节约, 一般是随地点而定(495)。在美国按照法律, 实验室只有在咨询了使用实验室的临床医师后, 才能进行辅助反应检测。

临床医师应该期望他们的临床实验室与参比实验室和/或当地其他实验室建立联系, 使用不同制造商方法进行甲状腺检测。以不同方法对同一样本进行再检测, 调查不一致结果的原因是调研的基础: 究竟是由于技术性问题? 还是由于样本中的干扰物质或是罕见的临床情况(准则7和表1)?

准则 76. 患者的“权利清单”

- 当临床医师发现其合同实验室的甲状腺检验结果对诊断无效或者无关时, 他们有权把样本送至非合同实验室进行检验。
- 如检测结果与临床表现不一致时, 临床医师应该有权要求其实验室把样本送至其他实验室用不同制造商的方法进行检验。

实验室应建立并维持与专业参比实验室的积极联系, 以保证得到高质量的专业甲状腺试验。这些专业试验包括: Tg、TPOAb和TRAb试验。此外, 应该有参比实验室能提供使用物理分离技术, 如平衡透析来测量FT4。可能有必要在特殊情况下应用平衡透析法检测FT4, 来诊断某些挑选出来的患者的甲状腺疾病, 这些患者有甲状腺激素结合蛋白的异常, 干扰了大多数临床实验室的自动化FT4估值试验的诊断准确性。罕见的病例, 可能要与分子诊断实验室合作, 它们有专家能鉴定甲状腺激素抵抗症、或甲状腺髓样癌疾病的遗传突变特性。

表1和图11所示, 一些临床情况、给药和样本干扰都会增加诊断不准确的试验结果, 有可能造成过度检验、不当治疗、或者在对中枢型甲减病例掩盖了治疗的需要。准则79中列举一些可能导致严重错误的误判。

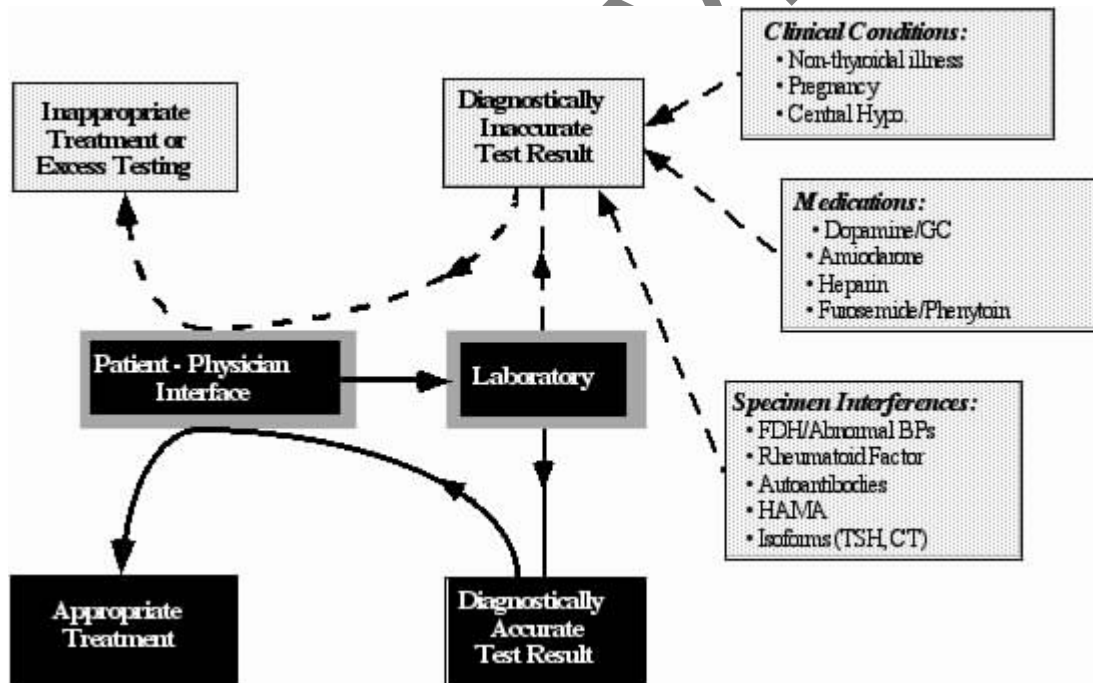


Fig 11. 甲状腺试验不正确诊断所导致的后果

制造商有责任全面评价他们的方法, 并与使用他们产品的实验室密切合作。特别是, 当知道试剂出现问题和有方法干扰时, 制造商应立即告知所有使用者, 并做出指导如何将问题对临床的影响降到最低。即使目的是将干扰减少到最低, 在没有告知使用者, 并有足够的时间进行与既往方法相关研究之前, 制造商要避免改变试剂盒的组分。如果不得不改变制作, 必须在试剂盒标签上标明, 即按型号批号注明。

准则 77. 对试剂制造商

制造商应与使用他们产品的实验室紧密合作。制造商应该:

- 迅速将试剂问题和方法干扰告知所有使用者, 并对如何将其对临床的影响降到最低做出指导。
- 即使目的是为了减少干扰, 在没有首先告知用户时, 不应改变分析试剂盒的组分。如果不得不改变制作, 应该将改变标明在试剂盒的标签上 (即按型号批号注明)。

4.2 实验室对临床医师应该期望什么

理想的是, 临床实验室科学家期望临床医师在提交检验样本时, 提供患者相关的临床信息, 并真正了解甲状腺试验的局限性。例如, 在某些情况下, 临床医师应该意识到中枢性甲减的患者, TSH的免疫活性和生物活性会出现分离。原因可能是垂体机能障碍, 导致TSH的免疫活性构象影响了生物活性(197,238)。

准则78. 对实验室

- 每一临床实验室都应 与另一个采用不同制造商方法的实验室建立联系。使用另一种方法再次检测不一致结果样本, 调查不一致结果的原因是调研的基础: 究竟是样本有干扰物质? 还是“真实”疾病的结果引起不一致的结果(表1)?
- 实验室应该能向临床医师提供: 所用甲状腺试验方法的原理依据细节、功能灵敏度、批间精密 度, 与方法或其它方法有关的干扰和偏倚, 以及无论检测方法是在本地进行或是送往参比实验室。



准则 79. 可导致严重错误的误判

当临床医师或检验工作者未意识到试验方法的局限性时, 能导致严重的医疗错误:

- 由于FDH、甲状腺激素自身抗体或甲状腺激素抵抗, 报告了高水平的甲状腺激素, 因此实行了不恰当的甲状腺切除术。
- 对虚弱的非甲状腺病老年患者漏诊了T3型甲亢。
- 由于NTI或药物相关干扰, 导致异常的甲状腺试验结果, 将住院患者按甲减或甲亢进行了不恰当的治疗。
- 由于测量的是无生物活性的TSH亚型, 将免疫活性的TSH水平报告为正常, 漏诊了中枢性甲减。
- 由于TgAb的干扰或由于IMA方法的“弯钩”效应, 血清Tg不适当地降低或未被检出, 以致未能识别出甲状腺癌患者的复发或癌转移。
- TgAb干扰Tg RIA方法, 使血清Tg异常的升高, 以致对DTC进行不恰当的治疗。
- 未能认识到: 患Graves病的母亲服用的抗甲状腺药物可通过胎盘垂直传递, 掩盖了新生儿甲状腺毒症。

临床医师应知道异常的甲状腺试验结果会因某些用药而出现, 对于NTI患者, 甲状腺试验的诊断准确性取决于方法学。缺乏临床反馈, 实验室不可能知道诊断错误的结果(191)。甲减或甲亢治疗中血清TSH和FT4间短暂的平衡失调, 引起对试验结果的错误判读, 能产生严重的后果。

如果没有一个强有力的实验室与临床医师共同合作的界面, 实验室支持的质量毫无疑问不是最佳的。这就像美国这样的国家尤其正确, 实验室很少得到与样本相伴的书面的临床及药物治疗的相关信息。实验室没有能力对报告结果做出最终的“推理核查”--就是将实验结果与患者的临床和用药史结合在一起考虑, 就能导致错误, 尤其当临床医师不熟悉技术的局限性和影响试验的干扰因素时更应注意。



附录1-文稿评阅者

Robert Adler, M.D.

Medical College of Virginia, VA, USA

Gisah Amaral de Carvalho, MD, Ph.D

Hospital de Clinicas, Universidade Federal do Parana, Brazil

Nobuyuki Amino, M.D.

Osaka University Graduate School of Medicine, Japan

Claudio Aranda, M.D.

Hospital Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina

Jack H. Baskin M.D., F.A.C.E

Florida Thyroid & Endocrine Clinic, Orlando, FL, USA

Graham Beastall, Ph.D

Edinburgh Royal Infirmary NHS Trust, Scotland, UK

Geoff Beckett Ph.D., F.R.C.Path

Edinburgh Royal Infirmary NHS Trust, Scotland, UK

Liliana Bergoglio, BSc.,

Hoapital N. de Clinicas, Cordoba, Argentina

Roger Bertholf, Ph.D., DABCC, FACB

University of Florida Health Science Center, Jacksonville, FL, USA

Thomas Bigos, M.D., Ph.D.

Maine Medical Center, USA

Manfred Blum, M.D.

New York University Medical Center, New York, NY, USA

Gustavo Borrajo, M.D.

Detección de Errores Congénitos, Fundación Bioquímica Argentina, La Plata, Argentina

Irv Bromberg, M.D., C.M.

Mount Sinai Hospital, Toronto, Ontario, Canada

Rosalind Brown, M.D.

University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA, USA

Bo Youn Cho

Asan Medical Center, Seoul, Korea

Nic Christofides, Ph.D.,

Ortho-Clinical Diagnostics, Cardiff CF14 7YT, Wales, UK.

Orlo Clark, M.D.

UCSF/ Mount Zion Medical Center, San Francisco, CA, USA

Rhonda Cobin, M.D.

Midland Park, NJ, USA

David Cooper, M.D.

Sinai Hospital of Baltimore, Baltimore, MD, USA

Gilbert Cote, M.D.

UT MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

Marek Czarkowski, M.D.

Warsaw, Poland

Gilbert Daniels, M.D.

Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA

Catherine De Micco, M.D.

University of the Mediterranean Medical School, Marseille, France

D.Robert.Dufour, M.D.

VA Medical Center, Washington DC, USA

John Dunn, M.D.

University of Virginia Health Sciences Center, Charlottesville, VA, USA

Joel Ehrenkranz, M.D.

Aspen, CO, USA

David Endres, PhD,

University of Southern California, Los Angeles, USA

Carol Evans, BSc., MSc., Ph.D., MRcPath.

University Hospital of Wales, UK

Shireen Fatemi, M.D.

Kaiser Permanente of Southern California, Panorama City, CA, USA

J. Douglas Ferry, Ph.D.,

Beaumont Hospital, Southfield, MI, USA

Jayne Franklyn, M.D. Ph.D. F.R.C.P.

Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, UK

Jeffery Garber M.D.

Harvard Vanguard Medical Associates, Boston, MA, USA

Daniel Glinoe, M.D.

University Hospital St.Pierre, Bruxelles, Belgium

Timothy Greaves, M.D., F.A.C.P.

LAC-USC Medical Center, Los Angeles, CA, USA

B.J. Green

Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA

Ian Hanning, BSc., MSc., MRcPath

Hull Royal Infirmary, Hull, UK

Charles D. Hawker, Ph.D., MBA

Salt Lake City, Utah, USA

Georg Hennemann, M.D.

Erasmus University, Rotterdam, The Netherlands

Tien-Shang Huang, M.D.

College of Medicine, National Taiwan University, Taiwan

James Hurley, M.D.

New York Presbyterian Hospital, New York, NY, USA

William L Isley, MD

University of Missouri, Kansas City, MO, USA

Lois Jovanovic, MD

Sansum Medical Research Institute, Santa Barbara, CA, USA

George Kahaly M.D.

Gutenberg University Hospital, Mainz, Germany

Laurence Kaplan, Ph.D.

Bellevue Hospital, New York, USA

Elaine Kaptein, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, USA

J. H. Keffer, M.D.

Melbourne Beach, FL, USA

Pat Kendall-Taylor, M.D.

Newcastle on Tyne, England, UK

Leonard Kohn, M.D.

Ohio University College of Osteopathic Medicine Athens, Ohio, USA

Annie Kung, M.D.

The University of Hong Kong, Hong Kong

Paul Ladenson, M.D.

Johns Hopkins Hospital, Baltimore, MD, USA

Peter Laurberg, M.D.

University of Aalborg, Aalborg, Denmark

P. Reed Larsen, M.D. FACP, FRCP

Harvard Medical School, Boston, MA, USA

John Lazarus, M.A. M.D., F.R.C.P.

University of Wales College of Medicine, Cardiff, Wales, UK

Charles Lewis, Jr., Ph.D.

Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA

Jon LoPresti, M.D., Ph.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Gustavo Maccallini, Ph.D.

Hospital Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina

Rui Maciel, M.D., Ph.D.

Department of Medicine, Federal University of San Paulo, Sao Paulo, Brasil

Susan J. Mandel, MD, MPH

Hospital of the University of Pennsylvania, Pennsylvania, USA

Geraldo Medeiros-Neto, M.D.

Hospital das Clinicas, San Paulo, Brazil

Jorge Mestman, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Greg Miller M.D.

Virginia Commonwealth University, Richmond, VA, USA

James J. Miller, Ph.D., DABCC, FACB

University of Louisville, Kentucky, USA

Marvin Mitchell, M.D.

University Massachusetts Medical Center, Jamaica Plain, MA, USA

John Morris, M.D.

Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Jerald C. Nelson, M.D.

Loma Linda University, California, USA

Hugo Niepomnische, M.D.

Hospital de Clinicas, University Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Ernst Nystrom, M.D.

University of Goteborg, Sweden

Richard Pikner, M.D.

Charles University, Plzen, Czech Republic

Frank Quinn, Ph.D.

Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA

Peter Raggatt, M.D.

Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK

Robert Rude, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Jean Ruf, M.D.

Department of Biochemistry & Molecular Biology, Marseille, France

Remy Sapin, Ph.D.

Institut de Physique Biologique, Strasbourg, France

Gerardo Sartorio, M.D.

Hospital J.M. Ramos Mejia, Buenos Aires, Argentina

Steven I. Sherman, M.D.

MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

Peter A. Singer, M.D.

University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

Stephen Spalding, M.D.

VA Medical Center, Buffalo, NY, USA

Martin I. Surks, M.D.

Montefiore Medical Center, Bronx, NY, USA

Brad Therrell, Ph.D.

National Newborn Screening and Genetics Resource Center, Austin, TX, USA

Anthony D. Toft, M.D.

Edinburgh Royal Infirmary NHS Trust, Scotland, UK

Toni Torresani M.D.

University Children's Hospital, Zürich, Switzerland

R. Michael Tuttle, M.D.,

Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA

Hidemasa Uchimura, M.D.

Department of Clinical Pathology, Kyorin University, Japan

Greet Van den Berghe M.D., Ph.D.

Department of Intensive Care Medicine, University of Leuven, Leuven, Belgium

Lester Van Middlesworth, M.D., Ph.D.

University of Tennessee, Memphis, TN, USA

Paul Verheecke, M.D.

Centraal Laboratorium, Hasselt, Belgium

Paul Walfish, C.M., M.D.,

University of Toronto, Ontario, Canada

John P. Walsh, F.R.A.C.P. Ph.D.,

Sir Charles Gairdner Hospital, Nedlands, WA, Australia

Barry Allen Warner, DO

University of South Alabama College of Medicine, Mobile, AL, USA

Joseph Watine PharmD,

Laboratoire de biologie polyvalente, Hôpital Général, Rodez, France

Anthony P. Weetman, M.D.

Northern General Hospital, Sheffield, UK

Thomas Williams, M.D.

Methodist Hospital, Omaha, NE, USA

Ken Woeber, M.D.

UCSF, Mount Zion Medical Center, San Francisco, CA, USA

Nelson G. Wohllk MD,

Hospital del Salvador, Santiago, Chile

附录2 – 新生儿筛查质量保证项目

澳洲 - Australasian Quality Assurance Program, National Testing Center 2nd Floor, National Women's Hospital, Claude Road, Epsom, Auckland, New Zealand.

欧洲 - Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie eV, Im Muhlenbach 52a, D-53127 Bonn, Germany.

拉丁美洲 - Programa de Evaluación Externa de Calidad para Pesquisa Neonatal (PEEC). Fundación Bioquímica Argentina. Calle 6 # 1344. (1900) La Plata, Argentina

英国 United Kingdom External Quality Assurance Scheme, Wolfson EQA laboratory, PO Box 3909, Birmingham, B15 2UE, UK.

美国 - Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 4770 Buford Highway NE, Atlanta, GA 30341-3724, USA.

(英国 UK NEQAS 项目对参加者收费, 但是其他项目免费。)

附录3 – 缩写词汇表

AIH=	乙胺碘呋酮诱导的甲亢 Amiodarone-Induced Hyperthyroidism
AITD =	甲状腺自身免疫疾病 Autoimmune Thyroid Disease
ANS =	8-苯胺-1-萘磺酸 8-Anilino-1-Napthalene-Sulphonic Acid
ATD =	抗甲状腺药物治疗 Anti-Thyroid Drug Treatment
CT =	降钙素(CT)与ret原癌基因 Calcitonin
CV =	%变异系数=为标准差与均值的百分比 % Coefficient of Variation
DTC =	分化型甲状腺癌 Differentiated Thyroid Carcinoma
FDH =	家族性白蛋白异常高甲状腺素血症 Familial Dysalbuminemic Hyperthyroxinemia
FFA =	游离脂肪酸 Free Fatty Acids
FMTC =	家族性甲状腺髓样(腺)癌 Familial Medullary Thyroid Carcinomas
FNA =	细针抽吸 Fine Needle Aspiration
FT3 =	游离三碘甲状腺原氨酸 Free T3
FT4 =	游离甲状腺素 Free T4

HCC=	滤泡旁细胞增生C-cell Hyperplasia
HCG =	人绒毛膜促性腺(激)素Human chorionic gonadotropin
IMA =	免疫定量测定Immunometric Assay
L-T4 =	L-甲状腺素Levothyroxine
MEN =	多发性内分泌腺瘤病Multiple Endocrine Neoplasia
MTC =	甲状腺髓样(腺)癌Medullary Thyroid Carcinoma
NTI =	非甲状腺疾病Nonthyroidal Illness
PBI=	蛋白结合碘Protein-bound Iodine
Pg=	五肽胃泌素Pentagastrins
RT3=	反T3 Reverse T3
RET =	RET 原癌基因RET Proto-oncogene
RIA =	放射免疫测定Radioimmunoassay
T4 =	甲状腺素Thyroxine
T3 =	三碘甲腺原氨酸Triiodothyronine
TBG =	甲状腺结合球蛋白 (TBG) Thyroxine Binding Globulin
TBPA=	甲状腺结合前白蛋白 (TBPA) Thyroxine Binding Prealbumin
TT4 =	总甲状腺素Total Thyroxine
TT3 =	总三碘甲腺原氨酸Total Triiodothyronine
TTR=	甲状腺素运载蛋白Transthyretin
Tg =	甲状腺球蛋白Thyroglobulin
TgAb =	甲状腺球蛋白抗体(TgAb)Thyroglobulin Autoantibody
TPO =	甲状腺过氧化酶Thyroid Peroxidase
TPOAb =	甲状腺过氧化酶抗体Thyroid Peroxidase Autoantibody
TBAb/TSBA b =	促甲状腺激素受体阻滞抗体TSH Receptor Blocking Antibody
TBII =	促甲状腺激素结合抑制免疫球蛋白TSH Binding Inhibitory Immunoglobulins
TRAb =	促甲状腺激素受体抗体TSH Receptor Antibody
TSAb =	促甲状腺激素刺激抗体 TSH Stimulating Antibody (注)
TSH =	促甲状腺激素Thyroid Stimulating Hormone (Thyrotropin)
WHO=	世界卫生组织World Health Organization (WHO)

执笔注: TSAb 原文误为 Thyroid Stimulating Antibody, 应该是“TS H Stimulating Antibody”, 应该译为“促甲状腺激素刺激抗体”。

参考文献

1. Nohr SB, Laurberg P, Borlum KG, Pedersen Km, Johannesen PL, Damm P. Iodine deficiency in pregnancy in Denmark. Regional variations and frequency of individual iodine supplementation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993;72:350-3.
2. Glinioer D. Pregnancy and iodine. *Thyroid* 2001;11:471-81.
3. Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, Flanders DW, Gunter EW, Maberly GF et al. Iodine nutrition in the United States. Trends and public health implications: iodine excretion data from National Health and Nutrition Examination Surveys I and III (1971-1974 and 1988-1994). *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3398-400.
4. Wartofsky L, Glinioer D, Solomon d, Nagataki S, Lagasse R, Nagayama Y et al. Differences and similarities in the diagnosis and treatment of Graves disease in Europe, Japan and the United States. *Thyroid* 1990;1:129-35.
5. Singer PA, Cooper DS, Levy EG, Ladenson PW, Braverman LE, Daniels G et al. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. *JAMA* 1995;273:808-12.
6. Singer PA, Cooper DS, Daniels GH, Ladenson PW, Greenspan FS, Levy EG et al. Treatment Guidelines for Patients with Thyroid Nodules and Well-differentiated Thyroid Cancer. *Arch Intern Med* 1996;156:2165-72.
7. Vanderpump MPJ, Ahlquist JAO, Franklyn JA and Clayton RN. Consensus statement for good practice and audit measures in the management of hypothyroidism and hyperthyroidism. *Br Med J* 1996;313:539-44.
8. Laurberg P, Nygaard B, Glinioer D, Grussendorf M and Orgiazzi J. Guidelines for TSH-receptor antibody measurements in pregnancy: results of an evidence-based symposium organized by the European Thyroid Association. *Eur J Endocrinol* 1998;139:584-6.
9. Cobin RH, Gharib H, Bergman DA, Clark OH, Cooper DS, Daniels GH et al. AACE/AAES Medical/Surgical Guidelines for Clinical Practice: Management of Thyroid Carcinoma. *Endocrine Pract* 2001;7:203-20.
10. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, Bagchi N, Bigos ST, Levy EG et al. American Thyroid Association Guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Arch Intern Med* 2000;160:1573-5.
11. Brandi ML, Gagel RJ, Angelini A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C et al. Consensus Guidelines for Diagnosis and Therapy of MEN Type 1 and Type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5658-71.
12. Werner and Ingbar's "The Thyroid". A Fundamental and Clinical Text. Lippincott-Raven, Philadelphia 2000. Braverman LE and Utiger RD eds.
13. DeGroot LJ, Larsen PR, Hennemann G, eds. The Thyroid and Its Diseases. (www.thyroidmanager.org) 2000.
14. Piketty ML, D'Herbomez M, Le Guillouezic D, Lebtahi R, Cosson E, Dumont A et al. Clinical comparison of three labeled-antibody immunoassays of free triiodothyronine. *Clin Chem* 1996;42:933-41.
15. Sapin R, Schlienger JL, Goichot B, Gasser F and Grucker D. Evaluation of the Elecsys free triiodothyronine assay; relevance of age-related reference ranges. *Clin Biochem* 1998;31:399-404.
16. Robbins J. Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding. In "Hormones in Blood". Academic Press, London 1996. Gray CH, James VHT, eds. pp 96-110.
17. Demers LM. Thyroid function testing and automation. *J Clin Ligand Assay* 1999;22:38-41.
18. Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, Flanders WD, Gunter EW, Spencer CA et al. Serum thyrotropin, thyroxine and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:489-99.
19. Wardle CA, Fraser WD and Squire CR. Pitfalls in the use of thyrotropin concentration as a first-line thyroid-function test. *Lancet* 2001;357:1013-4.
20. 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.
21. Meikle, A. W., J. D. Stringham, M. G. Woodward and J. C. Nelson. Hereditary and environmental influences on the variation of thyroid hormones in normal male twins. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:588-92.

22. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH and Laurberg P. Narrow individual variations in serum T4 and T3 in normal subjects: a clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1068-72.
23. Cooper, D. S., R. Halpern, L. C. Wood, A. A. Levin and E. V. Ridgway. L-thyroxine therapy in subclinical hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1984;101:18-24.
24. Biondi B, Fazio E, Palmieri EA, Carella C, Panza N, Cittadini A et al. Left ventricular diastolic dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;2064-7.
25. Hak AE, Pols HAP, Visser TJ, Drexhage HA, Hofman A and Witteman JCM. Subclinical Hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med* 2000;132:270-8.
26. Michalopoulou G, Alevizaki M, Piperigos G, Mitsibounas D, Mantzos E, Adamopoulos P et al. High serum cholesterol levels in persons with 'high-normal' TSH levels: should one extend the definition of subclinical hypothyroidism? *Eur J Endocrinol* 1998;138:141-5.
27. Beck-Peccoz P, Brucker-Davis F, Persani L, Smalridge RC and Weintraub BD. Thyrotropin-secreting pituitary tumors. *Endocrine Rev* 1996;17:610-38.
28. Brucker-Davis F, Oldfield EH, Skarulis MC, Doppman JL and Weintraub BD. Thyrotropin-secreting pituitary tumors: diagnostic criteria, thyroid hormone sensitivity and treatment outcome in 25 patients followed at the National Institutes of Health. *J Clin Endocrinol Metab* 76 1999;:1089-94.
29. Oliveira JH, Persani L, Beck-Peccoz P and Abucham J. Investigating the paradox of hypothyroidism and increased serum thyrotropin (TSH) levels in Sheehan's syndrome: characterization of TSH carbohydrate content and bioactivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1694-9.
30. Uy H, Reasner CA and Samuels MH. Pattern of recovery of the hypothalamic-pituitary thyroid axis following radioactive iodine therapy in patients with Graves' disease. *Amer J Med* 1995;99:173-9.
31. Hershman JM, Pekary AE, Berg L, Solomon DH and Sawin CT. Serum thyrotropin and thyroid hormone levels in elderly and middle-aged euthyroid persons. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:823-8.
32. Fraser CG. Age-related changes in laboratory test results. Clinical applications. *Drugs Aging* 1993;3:246-57.
33. Fraser CG. 2001. Biological Variation: from principles to practice. AACC Press, Washington DC.
34. Drinka PJ, Siebers M and Voeks SK. Poor positive predictive value of low sensitive thyrotropin assay levels for hyperthyroidism in nursing home residents. *South Med J* 1993;86:1004-7.
35. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM, Appleton D, Bates D, Rodgers H et al. The incidence of thyroid disorders in the community; a twenty year follow up of the Whickham survey. *Clin Endocrinol* 1995;43:55-68.
36. Sawin CT, Geller A, Kaplan MM, Bacharach P, Wilson PW, Hershman JM et al. Low serum thyrotropin (thyroid stimulating hormone) in older persons without hyperthyroidism. *Arch Intern Med* 1991;151:165-8.
37. Parle JV, Maisonneuve P, Sheppard MC, Boyle P and Franklyn JA. Prediction of all-cause and cardiovascular mortality in elderly people from one low serum thyrotropin result: a 10-year study. *Lancet* 2001;358:861-5.
38. Nelson JC, Clark SJ, Borut DL, Tomei RT and Carlton EI. Age-related changes in serum free thyroxine during childhood and adolescence. *J Pediatr* 1993;123:899-905.
39. Adams LM, Emery JR, Clark SJ, Carlton EI and Nelson JC. Reference ranges for newer thyroid function tests in premature infants. *J Pediatr* 1995;126:122-7.
40. Lu FL, Yau KI, Tsai KS, Tang JR, Tsao PN and Tsai WY. Longitudinal study of serum free thyroxine and thyrotropin levels by chemiluminescent immunoassay during infancy. *Taiwan Erh K'o i Hseh Hui Tsa Chih* 1999;40:255-7.
41. Zurawski D, Di Canzio J and Majzoub JA. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin and free thyroxine. *Clin Chem* 1999;45:1087-91.
42. Fisher DA, Nelson JC, Carlton EI and Wilcox RB. Maturation of human hypothalamic-pituitary-thyroid function and control. *Thyroid* 2000;10:229-34.
43. Fisher DA, Schoen EJ, La Franchi S, Mandel SH, Nelson JC, Carlton EI and Goshi JH. The hypothalamic-pituitary-thyroid negative feedback control axis in children with treated congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2722-7.
44. Penny R, Spencer CA, Frasier SD and Nicoloff JT. Thyroid stimulating hormone (TSH) and thyroglobulin (Tg) levels decrease with chronological age in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:177-80.

45. Verheecke P. Free triiodothyronine concentration in serum of 1050 euthyroid children is inversely related to their age. *Clin Chem* 1997;43:963-7.
46. Glinoe D, De Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steirteghem A et al. Regulation of maternal thyroid function during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:276-87.
47. Glinoe D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocrinol Rev* 1997;18:404-33.
48. Weeke J, Dybkjaer L, Granlie K, Eskjaer Jensen S, Kjaerulff E, Laurberg P et al. A longitudinal study of serum TSH and total and free iodothyronines during normal pregnancy. *Acta Endocrinol* 1982;101:531-7.
49. Pedersen KM, Laurberg P, Iversen E, Knudsen PR, Gregersen HE, Rasmussen OS et al. Amelioration of some pregnancy associated variation in thyroid function by iodine supplementation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1078-83.
50. Nohr SB, Jorgensen A, Pedersen KM and Laurberg P. Postpartum thyroid dysfunction in pregnant thyroid peroxidase antibody-positive women living in an area with mild to moderate iodine deficiency: Is iodine supplementation safe? *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3191-8.
51. Panesar NS, Li CY and Rogers MS. Reference intervals for thyroid hormones in pregnant Chinese women. *Ann Clin Biochem* 2001;38:329-32.
52. Nissim M, Giorda G, Ballabio M, D'Alborton A, Bochicchio D, Orefice R et al. Maternal thyroid function in early and late pregnancy. *Horm Res* 1991;36:196-202.
53. Talbot JA, Lambert A, Anobile CJ, McLoughlin JD, Price A, Weetman AP et al. The nature of human chorionic gonadotropin glycoforms in gestational thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol* 2001;55:33-9.
54. Jordan V, Grebe SK, Cooke RR, Ford HC, Larsen PD, Stone PR et al. Acidic isoforms of chorionic gonadotrophin in European and Samoan women are associated with hyperemesis gravidarum and may be thyrotrophic. *Clin Endocrinol* 1999;50:619-27.
55. Goodwin TM, Montoro M, Mestman JH, Pekary AE and Hershman JM. The role of chorionic gonadotropin in transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1333-7.
56. Hershman JM. Human chorionic gonadotropin and the thyroid: hyperemesis gravidarum and trophoblastic tumors. *Thyroid* 1999;9:653-7.
57. McElduff A. Measurement of free thyroxine (T4) in pregnancy. *Aust NZ J Obst Gynecol* 1999;39:158-61.
58. Christofides, N., Wilkinson E, Stoddart M, Ray DC and Beckett GJ. Assessment of serum thyroxine binding capacity-dependent biases in free thyroxine assays. *Clin Chem* 1999;45:520-5.
59. 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.
60. Stockigt JR. Free thyroid hormone measurement: a critical appraisal. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2001;30:265-89.
61. Mandel SJ, Larsen PR, Seely EW and Brent GA. Increased need for thyroxine during pregnancy in women with primary hypothyroidism. *NEJM* 1990;323:91-6.
62. Burrow GN, Fisher DA and Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. *N Engl J Med* 1994;331:1072-8.
63. Pop VJ, De Vries E, Van Baar AL, Waelkens JJ, De Rooy HA, Horsten M et al. Maternal thyroid peroxidase antibodies during pregnancy: a marker of impaired child development? *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3561-6.
64. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, K. G. Williams JR, Gagnon J, O'Heir CE et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *NEJM* 1999;341:549-55.
65. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol* 1999;50:147-8.
66. Radetti G, Gentili L, Paganini C, Oberhofer R, Deluggi I and Delucca A. Psychomotor and audiological assessment of infants born to mothers with subclinical thyroid dysfunction in early pregnancy. *Minerva Pediatr* 2000;52:691-8.
67. Surks MI and Sievert R. Drugs and thyroid function. *NEJM* 1995;333:1688-94.

68. Kailajarvi M, Takala T, Gronroos P, Tryding N, Viikari J, Irjala K et al. Reminders of drug effects on laboratory test results. *Clin Chem* 2000;46:1395-1400.
69. Brabant A, Brabant G, Schuermeyer T, Ranft U, Schmidt FW, Hesch RD et al. The role of glucocorticoids in the regulation of thyrotropin. *Acta Endocrinol* 1989;121:95-100.
70. Samuels MH and McDaniel PA. Thyrotropin levels during hydrocortisone infusions that mimic fasting-induced cortisol elevations: a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3700-4.
71. Kaptein EM, Spencer CA, Kamiel MB and Nicoloff JT. Prolonged dopamine administration and thyroid hormone economy in normal and critically ill subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51:387-93.
72. Geffner DL and Hershman JM. Beta-adrenergic blockade for the treatment of hyperthyroidism. *Am J Med* 1992;93:61-8.
73. Meurisse M, Gollogly MM, Degauque C, Fumal I, Defechereux T and Hamoir E. Iatrogenic thyrotoxicosis: causal circumstances, pathophysiology and principles of treatment- review of the literature. *World J Surg* 2000;24:1377-85.
74. Martino E, Aghini-Lombardi F, Mariotti S, Bartelena L, Braverman LE and Pinchera A. Amiodarone: a common source of iodine-induced thyrotoxicosis. *Horm Res* 1987;26:158-71.
75. Martino E, Bartelena L, Bogazzi F and Braverman LE. The effects of amiodarone on the Thyroid. *Endoc Rev* 2001;22:240-54.
76. Daniels GH. Amiodarone-induced thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3-8.
77. Harjai KJ and Licata AA. Effects of amiodarone on thyroid function. *Ann Intern Med* 1997;126:63-73.
78. Caron P. Effect of amiodarone on thyroid function. *Press Med* 1995;24:1747-51.
79. Bartelena L, Grasso L, Brogioni S, Aghini-Lombardi F, Braverman LE and Martino E. Serum interleukin-6 in amiodarone-induced thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:423-7.
80. Eaton SE, Euntion HA, Newman CM, Weetman AP and Bennet WM. Clinical experience of amiodarone-induced thyrotoxicosis over a 3-year period: role of colour-flow Doppler sonography. *Clin Endocrinol* 2002;56:33-8.
81. Lazarus JH. The effects of lithium therapy on thyroid and thyrotropin-releasing hormone. *Thyroid* 1998;8:909-13.
82. Kusalic M and Engelsmann F. Effect of lithium maintenance therapy on thyroid and parathyroid function. *J Psych Neurosci* 1999;24:227-33.
83. Oakley PW, Dawson AH and Whyte IM. Lithium: thyroid effects and altered renal handling. *Clin Toxicol* 2000;38:333-7.
84. Mendel CM, Frost PH, Kunitake ST and Cavalieri RR. Mechanism of the heparin-induced increase in the concentration of free thyroxine in plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:1259-64.
85. Iitaka M, Kawasaki S, Sakurai S, Hara Y, Kuriyama R, Yamanaka K et al. Serum substances that interfere with thyroid hormone assays in patients with chronic renal failure. *Clin Endocrinol* 1998;48:739-46.
86. Bowie LJ, Kirkpatrick PB and Dohnal JC. Thyroid function testing with the TDx: Interference from endogenous fluorophore. *Clin Chem* 1987;33:1467.
87. DeGroot LJ and Mayor G. Admission screening by thyroid function tests in an acute general care teaching hospital. *Amer J Med* 1992;93:558-64.
88. Kaptein EM. Thyroid hormone metabolism and thyroid diseases in chronic renal failure. *Endocrinol Rev* 1996;17:45-63.
89. Van den Berghe G, De Zegher F and Bouillon R. Acute and prolonged critical illness as different neuroendocrine paradigms. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1827-34.
90. Van den Berhe G. Novel insights into the neuroendocrinology of critical illness. *Eur J Endocrinol* 2000;143:1-13.
91. Wartofsky L and Burman KD. Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the "euthyroid sick syndrome". *Endocrinol Rev* 1982;3:164-217.
92. Spencer CA, Eigen A, Duda M, Shen D, Qualls S, Weiss S et al. Sensitive TSH tests - specificity limitations for screening for thyroid disease in hospitalized patients. *Clin Chem* 1987;33:1391-1396.
93. Stockigt JR. Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: nonthyroidal illness. *Clin Chem* 1996;42:188-92.
94. Nelson JC and Weiss RM. The effects of serum dilution on free thyroxine (T4) concentration in the low T4 syndrome of nonthyroidal illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;61:239-46.

95. Chopra IJ, Huang TS, Beredo A, Solomon DH, Chua Teco GN. Serum thyroid hormone binding inhibitor in non thyroidal illnesses. *Metabolism* 1986;35:152-9.
96. Wang R, Nelson JC and Wilcox RB. Salsalate administration - a potential pharmacological model of the sick euthyroid syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3095-9.
97. Sapin R, Schliener JL, Kaltenbach G, Gasser F, Christofides N, Roul G et al. Determination of free triiodothyronine by six different methods in patients with non-thyroidal illness and in patients treated with amiodarone. *Ann Clin Biochem* 1995;32:314-24.
98. Docter R, van Toor H, Krenning EP, de Jong M and Hennemann G. Free thyroxine assessed with three assays in sera of patients with nonthyroidal illness and of subjects with abnormal concentrations of thyroxine-binding proteins. *Clin Chem* 1993;39:1668-74.
99. Wilcox RB, Nelson JC and Tomei RT. Heterogeneity in affinities of serum proteins for thyroxine among patients with non-thyroidal illness as indicated by the serum free thyroxine response to serum dilution. *Eur J Endocrinol* 1994;131:9-13.
100. Liewendahl K, Tikanoja S, Mahonen H, Helenius T, Valimaki M and Tallgren LG. Concentrations of iodothyronines in serum of patients with chronic renal failure and other nonthyroidal illnesses: role of free fatty acids. *Clin Chem* 1987;33:1382-6.
101. Sapin R, Schlienger JL, Gasser F, Noel E, Lioure B, Grunenberger F. Intermethod discordant free thyroxine measurements in bone marrow-transplanted patients. *Clin Chem* 2000;46:418-22.
102. 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.
103. Hamblin PS, Dyer SA, Mohr VS, Le Grand BA, Lim C-F, Tuxen DB, Topliss DJ and Stockigt JR. Relationship between thyrotropin and thyroxine changes during recovery from severe hypothyroxinemia of critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:717-22.
104. Brent GA and Hershman JM. Thyroxine therapy in patients with severe nonthyroidal illnesses and low serum thyroxine concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63:1-8.
105. De Groot LJ. Dangerous dogmas in medicine: the nonthyroidal illness syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:151-64.
106. Burman KD and Wartofsky L. Thyroid function in the intensive care unit setting. *Crit Care Clin* 2001;17:43-57.
107. Behrend EN, Kempainen RJ and Young DW. Effect of storage conditions on cortisol, total thyroxine and free thyroxine concentrations in serum and plasma of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1998;212:1564-8.
108. Oddie TH, Klein AH, Foley TP and Fisher DA. Variation in values for iodothyronine hormones, thyrotropin and thyroxine binding globulin in normal umbilical-cord serum with season and duration of storage. *Clin Chem* 1979;25:1251-3.
109. Koliakos G, Gaitatzi M and Grammaticos P. Stability of serum TSH concentration after non refrigerated storage. *Minerva Endocrinol* 1999;24:113-5.
110. Waite KV, Maberly GF and Eastman CJ. Storage conditions and stability of thyrotropin and thyroid hormones on filter paper. *Clin Chem* 1987;33:853-5.
111. Levinson SS. The nature of heterophilic antibodies and their role in immunoassay interference. *J Clin Immunoassay* 1992;15:108-15.
112. Norden AGM, Jackson RA, Norden LE, Griffin AJ, Barnes MA and Little JA. Misleading results for immunoassays of serum free thyroxine in the presence of rheumatoid factor. *Clin Chem* 1997;43:957-62.
113. Covinsky M, Laterza O, Pfeifer JD, Farkas-Szallasi T and Scott MG. Lambda antibody to *Escherichia coli* produces false-positive results in multiple immunometric assays. *Clin Chem* 2000;46:1157-61.
114. Martel J, Despres N, Ahnadi CE, Lachance JF, Monticello JE, Fink G, Ardemagni A, Banfi G, Tovey J, Dykes P, John R, Jeffery J and Grant AM. Comparative multicentre study of a panel of thyroid tests using different automated immunoassay platforms and specimens at high risk of antibody interference. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:785-93.
115. Howanitz PJ, Howanitz JH, Lamberson HV and Ennis KM. Incidence and mechanism of spurious increases in serum Thyrotropin. *Clin Chem* 1982;28:427-31.
116. Boscatto, L. M. and M. C. Stuart. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.

- 117.Kricka LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-56.
- 118.Sapin R and Simon C. False hyperprolactinemia corrected by the use of heterophilic antibody-blocking agent. *Clin Chem* 2001;47:2184-5.
- 119.Feldt-Rasmussen U, Petersen PH, Blaabjerg O and Horder M. Long-term variability in serum thyroglobulin and thyroid related hormones in healthy subjects. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1980;95:328-34.
- 120.Browning MCK, Ford RP, Callaghan SJ and Fraser CG. Intra-and interindividual biological variation of five analytes used in assessing thyroid function: implications for necessary standards of performance and the interpretation of results. *Clin Chem* 1986;32:962-6.
- 121.Lum SM and Nicoloff JT. Peripheral tissue mechanism for maintenance of serum triiodothyronine values in a thyroxine-deficient state in man. *J Clin Invest* 1984;73:570-5.
- 122.Spencer CA and Wang CC. Thyroglobulin measurement:- Techniques, clinical benefits and pitfalls. *Endocrinol Metab Clin N Amer* 1995;24:841-63.
- 123.Weeke J and Gundersen HJ. Circadian and 30 minute variations in serum TSH and thyroid hormones in normal subjects. *Acta Endocrinol* 1978;89:659-72.
- 124.Brabant G, Prank K, Hoang-Vu C and von zur Muhlen A. Hypothalamic regulation of pulsatile thyrotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:145-50.
- 125.Fraser CG, Petersen PH, Ricos C and Haeckel R. Proposed quality specifications for the imprecision and inaccuracy of analytical systems for clinical chemistry. *Eur J Clin Chem Biochem* 1992;30:311-7.
- 126.Rodbard, D. Statistical estimation of the minimal detectable concentration ("sensitivity") for radioligand assays. *Anal Biochem* 1978;90:1-12.
- 127.Ekins R and Edwards P. On the meaning of "sensitivity". *Clin Chem* 1997;43:1824-31.
- 128.Fuentes-Arderiu X and Fraser CG. Analytical goals for interference. *Ann Clin Biochem* 1991;28:393-5.
- 129.Petersen PH, Fraser CG, Westgard JO and Larsen ML. Analytical goal-setting for monitoring patients when two analytical methods are used. *Clin Chem* 1992;38:2256-60.
- 130.Fraser CG and Petersen PH. Desirable standards for laboratory tests if they are to fulfill medical needs. *Clin Chem* 1993;39:1453-5.
- 131.Stockl D, Baadenhuijsen H, Fraser CG, Libeer JC, Petersen PH and Ricos C. Desirable routine analytical goals for quantities assayed in serum. Discussion paper from the members of the external quality assessment (EQA) Working Group A on analytical goals in laboratory medicine. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:157-69.
- 132.Plebani M, Giacomini A, Beghi L, de Paoli M, Roveroni G, Galeotti F, Corsini A and Fraser CG. Serum tumor markers in monitoring patients: interpretation of results using analytical and biological variation. *Anticancer Res* 1996;16:2249-52.
- 133.Browning MC, Bennet WM, Kirkaldy AJ and Jung RT. Intra-individual variation of thyroxine, triiodothyronine and thyrotropin in treated hypothyroid patients: implications for monitoring replacement therapy. *Clin Chem* 1988;34:696-9.
- 134.Harris EK. Statistical principles underlying analytic goal-setting in clinical chemistry. *Am J Clin Pathol* 1979;72:374-82.
- 135.Nelson JC and Wilcox RB. Analytical performance of free and total thyroxine assays. *Clin Chem* 1996;42:146-54.
- 136.Evans SE, Burr WA and Hogan TC. A reassessment of 8-anilino-1-naphthalene sulphonic acid as a thyroxine binding inhibitor in the radioimmunoassay of thyroxine. *Ann Clin Biochem* 1977;14:330-4.
- 137.Karapitta CD, Sotiropoulos TG, Papadimitriou A and Xenakis A. Homogeneous enzyme immunoassay for triiodothyronine in serum. *Clin Chem* 2001;47:569-74.
- 138.De Brabandere VI, Hou P, Stockl D, Theinpont LM and De Leenheer AP. Isotope dilution-liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry for the determination of serum thyroxine as a potential reference method. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1998;12:1099-103.
- 139.Tai SSC, Sniegowski LT and Welch MJ. Candidate reference method for total thyroxine in human serum: Use of isotope-dilution liquid chromatography-mass spectrometry with electrospray ionization. *Clin Chem* 2002;48:637-42.
- 140.Thienpont LM, Fierens C, De Leenheer AP and Przywara L. Isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/electro-spray ionization-tandem mass

- spectrometry for the determination of triiodo-L-thyronine in serum. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1999;13:1924-31.
141. Sarne DH, Refetoff S, Nelson JC and 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.
142. Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid* 2000;10:141-9.
143. Beck-Peccoz P, Romelli PB, Cattaneo MG, Faglia G, White EL, Barlow JW et al. Evaluation of free T4 methods in the presence of iodothyronine autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:736-9.
144. Sakata S, Nakamura S and Miura K. Autoantibodies against thyroid hormones or iodothyronine. *Ann Intern Med* 1985;103:579-89.
145. Despres N and Grant AM. Antibody interference in thyroid assays: a potential for clinical misinformation. *Clin Chem* 1998;44:440-54.
146. Hay ID, Bayer MF, Kaplan MM, Klee GG, Larsen PR and Spencer CA. American Thyroid Association Assessment of Current Free Thyroid Hormone and Thyrotropin Measurements and Guidelines for Future Clinical Assays. *Clin Chem* 1991;37:2002 - 2008.
147. Ekins R. The science of free hormone measurement. *Proc UK NEQAS Meeting* 1998;3:35-59.
148. Wang R, Nelson JC, Weiss RM and Wilcox RB. Accuracy of free thyroxine measurements across natural ranges of thyroxine binding to serum proteins. *Thyroid* 2000;10:31-9.
149. Nelson JC, Wilcox BR and Pandian MR. Dependence of free thyroxine estimates obtained with equilibrium tracer dialysis on the concentration of thyroxine-binding globulin. *Clin Chem* 1992;38:1294-1300.
150. Ekins R. The free hormone hypothesis and measurement of free hormones. *Clin Chem* 1992;38:1289-93.
151. Ekins RP. Ligand assays: from electrophoresis to miniaturized microarrays. *Clin Chem* 1998;44:2015-30.
152. Ekins R. Analytic measurements of free thyroxine. *Clin Lab Med* 1993;13:599-630.
153. Nusynowitz, M. L. Free-thyroxine index. *JAMA* 1975;232:1050.
154. Larsen PR, Alexander NM, Chopra IJ, Hay ID, Hershman JM, Kaplan MM et al. Revised nomenclature for tests of thyroid hormones and thyroid-related proteins in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1089-94.
155. Burr WA, Evans SE, Lee J, Prince HP, Ramsden DB. The ratio of thyroxine to thyroxine-binding globulin measurement in the evaluation of thyroid function. *Clin Endocrinol* 1979;11:333-42.
156. Attwood EC and Atkin GE. The T4: TBG ratio: a re-evaluation with particular reference to low and high serum TBG levels. *Ann Clin Biochem* 1982;19:101-3.
157. Szpunar WE, Stoffer SS and DiGiulio W. Clinical evaluation of a thyroxine binding globulin assay in calculating a free thyroxine index in normal, thyroid disease and sick euthyroid patients. *J Nucl Med* 1987;28:1341-3.
158. Nelson JC and Tomei RT. Dependence of the thyroxine/thyroxine-binding globulin (TBG) ratio and the free thyroxine index on TBG concentrations. *Clin Chem* 1989;35:541-4.
159. Sterling K and Brenner MA. Free thyroxine in human serum: Simplified measurement with the aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* 1966;45:153-60.
160. Schulssler GC and Plager JE. Effect of preliminary purification of 131-Thyroxine on the determination of free thyroxine in serum. *J Clin Endocrinol* 1967;27:242-50.
161. Nelson JC and Tomei RT. A direct equilibrium dialysis/radioimmunoassay method for the measurement of free thyroxine in undiluted serum. *Clin Chem* 1988;34:1737-44.
162. Tikanoja SH. Ultrafiltration devices tested for use in a free thyroxine assay validated by comparison with equilibrium dialysis. *Scand J Clin Lab Invest* 1990;50:663-9.
163. Ellis SM and Ekins R. Direct measurement by radioimmunoassay of the free thyroid hormone concentrations in serum. *Acta Endocrinol (Suppl)* 1973;177:106-110.
164. Weeke J and Orskov H. Ultrasensitive radioimmunoassay for direct determination of free triiodothyronine concentration in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1975;35:237-44.
165. Surks MI, Hupart KH, Chao P and Shapiro LE. Normal free thyroxine in critical nonthyroidal illnesses measured by ultrafiltration of undiluted serum and equilibrium dialysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:1031-9.
166. Holm SS andreasen L, Hansen SH, Faber J and Staun-Olsen P. Influence of adsorption and deproteinization on potential free thyroxine reference methods. *Clin Chem* 2002;48:108-114.

167. Jaume JC, Mendel CM, Frost PH, Greenspan FS, Laughton CW. Extremely low doses of heparin release lipase activity into the plasma and can thereby cause artifactual elevations in the serum-free thyroxine concentrations as measured by equilibrium dialysis. *Thyroid* 1996;6:79-83.
168. Stevenson HP, Archbold GP, Johnston P, Young IS, Sheridan B. Misleading serum free thyroxine results during low molecular weight heparin treatment. *Clin Chem* 1998;44:1002-7.
169. Laji K, Rhidha B, John R, Lazarus J and Davies JS. Artifactual elevations in serum free thyroxine and triiodothyronine concentrations during heparin therapy. *QJM* 2001;94:471-3.
170. Lim CF, Bai Y, Topliss DJ, Barlow JW and Stockigt JR. Drug and fatty acid effects on serum thyroid hormone binding. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:682-8.
171. Czako G., M. H. Zweig, C. Benson and M. Ruddel. On the albumin-dependence of measurements of free thyroxin. II Patients with non-thyroidal illness. *Clin Chem* 1987;33:87-92.
172. Csako G, Zwieg MH, Glickman J, Ruddel M and K. J. Direct and indirect techniques for free thyroxin compared in patients with nonthyroidal illness. II. Effect of prealbumin, albumin and thyroxin-binding globulin. *Clin Chem* 1989;35:1655-62.
173. Csako G, Zweig MH, Glickman J, Kestner J and Ruddel M. Direct and indirect techniques for free thyroxin compared in patients with nonthyroidal illness. I. Effect of free fatty acids. *Clin Chem* 1989;35:102-9.
174. Ross HA and Benraad TJ. Is free thyroxine accurately measurable at room temperature? *Clin Chem* 1992;38:880-6.
175. Van der Sluijs Veer G, Vermes I, Bonte HA and Hoorn RKJ. Temperature effects on Free Thyroxine Measurement: Analytical and Clinical Consequences. *Clin Chem* 1992;38:1327-31.
176. Fisher DA. The hypothyroxinemia of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1701-3.
177. Stockigt JR, Stevens V, White EL and Barlow JW. Unbound analog radioimmunoassays for free thyroxin measure the albumin-bound hormone fraction. *Clin Chem* 1983;29:1408-10.
178. Aravelo G. Prevalence of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in serum samples received for thyroid testing. *Clin Chem* 1991;37:1430-1.
179. Sapin R and Gasser F. Anti-solid phase antibodies interfering in labeled-antibody assays for free thyroid hormones. *Clin Chem* 1995;45:1790-1.
180. Inada M and Sterling K. Thyroxine transport in thyrotoxicosis and hypothyroidism. *J Clin Invest* 1967;46:1442-50.
181. Lueprasitsakul W, Alex S, Fang SL, Pino S, Irmischer K, Kohrle J et al. Flavonoid administration immediately displaces thyroxine (T4) from serum transthyretin, increases serum free T4 and decreases serum thyrotropin in the rat. *Endocrinol* 1990;126:2890-5.
182. Stockigt JR, Lim CF, Barlow J, Stevens V, Topliss DJ, Wynne KN. High concentrations of furosemide inhibit plasma binding of thyroxine. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59:62-6.
183. Hawkins RC. Furosemide interference in newer free thyroxine assays. *Clin Chem* 1998;44:2550-1.
184. Wang R, Nelson JC and Wilcox RB. Salsalate and salicylate binding to and their displacement of thyroxine from thyroxine-binding globulin, transthyrin and albumin. *Thyroid* 1999;9:359-64.
185. Munro SL, Lim C-F, Hall JG, Barlow JW, Craik DJ, Topliss DJ and Stockigt JR. Drug competition for thyroxine binding to transthyretin (prealbumin): comparison with effects on thyroxine-binding globulin. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:1141-7.
186. Stockigt JR, Lim C-F, Barlow JW and Topliss DJ. 1997. *Thyroid hormone transport*. Springer Verlag, Heidelberg. 119 pp.
187. Surks MI and Defesi CR. Normal free thyroxine concentrations in patients treated with phenytoin or carbamazepine: a paradox resolved. *JAMA* 1996;275:1495-8.
188. Ross HA. A dialysis method for the measurement of free iodothyronine and steroid hormones in blood. *Experientia* 1978;34:538-9.
189. Sapin R. Serum thyroxine binding capacity-dependent bias in five free thyroxine immunoassays: assessment with serum dilution experiments and impact on diagnostic performance. *Clin Biochem* 2001;34:367-71.
190. Law LK, Cheung CK and Swaminathan R. Falsely high thyroxine results by fluorescence polarization in sera with high background fluorescence. *Clin Chem* 1988;34:1918.
191. Kricka LJ. Interferences in Immunoassay - still a threat. *Clin Chem* 2000;46:1037-8.
192. McBride JH, Rodgerson DO and Allin RE. Choriogonadotrophin interference in a sensitive assay for Thyrotropin. *Clin Chem* 1987;33:1303-4.

- 193.Ritter D, Stott R, Grant N and Nahm MH. Endogenous antibodies that interfere with Thyroxine fluorescence polarization assay but not with radioimmunoassay or EMIT. *Clin Chem* 1993;39:508-11.
- 194.DeGroot LJ, Larsen PR, Refetoff S and Stanbury JB. *The Thyroid and its Diseases*. Fifth Edition, 1984;John Wiley & Sons, Inc., New York:266-7.
- 195.Beck-Peccoz P, Amr S, Menezes-Ferreira NM, Faglia G and Weintraub BD. Decreased receptor binding of biologically inactive thyrotropin in central hypothyroidism: effect of treatment with thyrotropin-releasing hormone. *N Engl J Med* 1985;312:1085-90.
- 196.Beck-Peccoz P and Persani L. Variable biological activity of thyroid-stimulating hormone. *Eur J Endocrinol* 1994;131:331-40.
- 197.Persani L, Ferretti E, Borgato S, Faglia G and Beck-Peccoz P. Circulating thyrotropin bioactivity in sporadic central hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3631-5.
- 198.Rafferty B and Gaines Das R. Comparison of pituitary and recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in a multicenter collaborative study: establishment of the first World Health Organization reference reagent for rhTSH. *Clin Chem* 1999;45:2207-15.
- 199.Persani L, Borgato S, Romoli R, Asteria C, Pizzocaro A and Beck-Peccoz P. Changes in the degree of sialylation of carbohydrate chains modify the biological properties of circulating thyrotropin isoforms in various physiological and pathological states. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2486-92.
- 200.Gershengorn MC and Weintraub BD. Thyrotropin-induced hyperthyroidism caused by selective pituitary resistance to thyroid hormone. A new syndrome of "inappropriate secretion of TSH". *J Clin Invest* 1975;56:633-42.
- 201.Faglia G, Beck-Peccoz P, Piscitelli G and Medri G. Inappropriate secretion of thyrotropin by the pituitary. *Horm Res* 1987;26:79-99.
- 202.Spencer CA, Takeuchi M and Kazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. *Clinical Chemistry* 1996;42:141-145.
- 203.Laurberg P. Persistent problems with the specificity of immunometric TSH assays. *Thyroid* 1993;3:279-83.
- 204.Spencer CA, Schwarzbein D, Guttler RB, LoPresti JS and Nicoloff JT. TRH stimulation test responses employing third and fourth generation TSH assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:494-498.
- 205.Vogeser M, Weigand M, Fraunberger P, Fischer H and Cremer P. Evaluation of the ADVIA Centaur TSH-3 assay. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:331-4.
- 206.Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, MacKenzie F, Beckett GJ and Wilkinson E. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays for thyrotropin (TSH): impact on reliability of measurement of subnormal concentration. *Clin Chem* 1995;41:367-74.
- 207.Tunbridge WM, Evered DC, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, Evans JG, Young E, Bird T and Smith PA. The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. *Clin Endocrinol* 1977;7:481-93.
- 208.Rago T, Chiovato L, Grasso L, Pinchera A and Vitti P. Thyroid ultrasonography as a tool for detecting thyroid autoimmune diseases and predicting thyroid dysfunction in apparently healthy subjects. *J Endocrinol Invest* 2001;24:763-9.
- 209.Hershman JM and Pittman JA. Utility of the radioimmunoassay of serum thyrotropin in man. *Ann Intern Med* 1971;74:481-90.
- 210.Becker DV, Bigos ST, Gaitan E, Morris JC, Rallison ML, Spencer CA, Sugawara M, Middlesworth LV and Wartofsky L. Optimal use of blood tests for assessment of thyroid function. *JAMA* 1993;269:2736.
- 211.Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G and Ridgway EC. The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study. *Arch Intern Med* 2000;160:19-27.
- 212.Skamene A and Patel YC. Infusion of graded concentrations of somatostatin in man: pharmacokinetic and differential inhibitory effects on pituitary and islet hormones. *Clin Endocrinol* 1984;20:555-64.
- 213.Berghout A, Wiersinga WM, Smits NJ and Touber JL. Interrelationships between age, thyroid volume, thyroid nodularity and thyroid function in patients with sporadic nontoxic goiter. *Am J Med* 1990;89:602-8.
- 214.Parle JV, Franklyn JA, Cross KW, Jones SC and Sheppard MC. Prevalence and follow-up of abnormal thyrotropin (TSH) concentrations in the elderly in the United Kingdom. *Clin Endocrinol* 1991;34:77-83.

215. Danese D, Sciacchitano S, Farsetti A, Andreoli M and Pontecorvi A. Diagnostic accuracy of conventional versus sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. *Thyroid* 1998;8:15-21.
216. McDermott MT and Ridgway EC. Subclinical hypothyroidism is mild thyroid failure and should be treated. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4585-90.
217. Chu JW and Crapo LM. The treatment of subclinical hypothyroidism is seldom necessary. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4591-9.
218. Lewis GF, Alessi CA, Imperial JG and Refetoff S. Low serum free thyroxine index in ambulating elderly is due to a resetting of the threshold of thyrotropin feedback suppression. *JCEM* 1991;73:843-9.
219. Pearce CJ and Himsworth RL. Total and free thyroid hormone concentrations in patients receiving maintenance replacement treatment with thyroxine. *Br Med J* 1984;288:693-5.
220. Fish LH, Schwarz HL, Cavanaugh MD, Steffes MW, Bantle JP, Oppenheimer JH. Replacement dose, metabolism and bioavailability of levothyroxine in the treatment of hypothyroidism. *N Engl J Med* 1987;316:764-70.
221. Sawin CT, Herman T, Molitch ME, London MH and Kramer SM. Aging and the thyroid. Decreased requirement for thyroid hormone in older hypothyroid patients. *Amer J Med* 1983;75:206-9.
222. Davis FB, LaMantia RS, Spaulding SW, Wemann RE and Davis PJ. Estimation of a physiologic replacement dose of levothyroxine in elderly patients with hypothyroidism. *Arch Intern Med* 1984;144.
223. Arafah BM. Estrogen therapy may necessitate an increase in thyroxine dose for hypothyroidism. *NEJM* 2001;344:1743-9.
224. Scheithauer BW, Kovacs K, Randall RV and Ryan N. Pituitary gland in hypothyroidism. Histologic and immunocytologic study. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:499-504.
225. Ain KB, Pucino F, Shiver T and Banks SM. Thyroid hormone levels affected by time of blood sampling in thyroxine-treated patients. *Thyroid* 1993;3:81-5.
226. Chorazy PA, Himelhoch S, Hopwood NJ, Greger NG and Postellon DC. Persistent hypothyroidism in an infant receiving a soy formula: case report and review of the literature. *Pediatrics* 1995;96:148-50.
227. Dulgeroff AJ and Hershman JM. Medical therapy for differentiated thyroid carcinoma. *Endocrinol Rev* 1994;15:500-15.
228. Pujol P, Daures JP, Nsakala N, Baldet L, Bringer J and Jaffiol C. Degree of thyrotropin suppression as a prognostic determinant in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4318-23.
229. Cooper DS, Specker B, Ho M, Sperling M, Ladenson PW, Ross DS, Ain KB, Bigos ST, Brierley JD, Haugen BR, Klein I, Robbins J, Sherman SI, Taylor T and Maxon HR 3rd. Thyrotropin suppression and disease progression in patients with differentiated thyroid cancer: results from the National thyroid Cancer Treatment Cooperative Registry. *Thyroid* 1999;8:737-44.
230. Hurley DL and Gharib H. Evaluation and management of multinodular goiter. *Otolaryngol Clin North Am* 1996;29:527-40.
231. Bayer MF, Macoviak JA and McDougall IR. Diagnostic performance of sensitive measurements of serum thyrotropin during severe nonthyroidal illness: Their role in the diagnosis of hyperthyroidism. *Clin Chem* 1987;33:2178-84.
232. Lum SM, Kaptein EM and Nicoloff JT. Influence of nonthyroidal illnesses on serum thyroid hormone indices in hyperthyroidism. *West J Med* 1983;138:670-5.
233. Faglia G, Bitensky L, Pinchera A, Ferrari C, Paracchi A, Beck-Peccoz P, Ambrosi B and Spada A. Thyrotropin secretion in patient with central hypothyroidism: Evidence for reduced biological activity of immunoreactive thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;48:989-98.
234. Faglia G, Beck-Peccoz P, Ballabio M and Nava C. Excess of beta-subunit of thyrotropin (TSH) in patients with idiopathic central hypothyroidism due to the secretion of TSH with reduced biological activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:908-14.
235. Faglia G. The clinical impact of the thyrotropin-releasing hormone test. *Thyroid* 1998;8:903-8.
236. Trejbal D, Sulla I, Trejbalova L, Lazurova I, Schwartz P and Machanova Y. Central hypothyroidism - various types of TSH responses to TRH stimulation. *Endocr Regul* 1994;28:35-40.
237. Faglia G, Ferrari C, Paracchi A, Spada A and Beck-Peccoz P. Triiodothyronine response to thyrotropin releasing hormone in patients with hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol* 1975;4:585-90.
238. Horimoto M, Nishikawa M, Ishihara T, Yoshikawa N, Yoshimura M and Inada M. Bioactivity of thyrotropin (TSH) in patients with central hypothyroidism: comparison between in vivo 3,5,3'-

- triiodothyronine response to TSH and in vitro bioactivity of TSH. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1124-8.
239. Refetoff S, Weiss RE and Usala SJ. The syndromes of resistance to thyroid hormone. *Endocr Rev* 1993;14:348-99.
240. Weiss RE, Hayashi Y, Nagaya T, Petty KJ, Murata Y, Tunca H, Seo H and Refetoff S. Dominant inheritance of resistance to thyroid hormone not linked to defects in the thyroid hormone receptors alpha or beta genes may be due to a defective co-factor. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4196-203.
241. Snyder D, Sesser D, Skeels M et al. Thyroid disorders in newborn infants with elevated screening T4. *Thyroid* 1997;7 (Suppl 1):S1-29 (abst).
242. Refetoff S. 2000. Resistance to Thyroid Hormone. In *The Thyroid*. Braverman LE and Utiger RD, editor. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 1028-43.
243. Beck-Peccoz P and Chatterjee VKK. The variable clinical phenotype in thyroid hormone resistance syndrome. *Thyroid* 1994;4:225-32.
244. Persani L, Asteria C, Tonacchera M, Vitti P, Krishna V, Chatterjee K and Beck-Peccoz P. Evidence for the secretion of thyrotropin with enhanced bioactivity in syndromes of thyroid hormone resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:1034-9.
245. Sarne DH, Sobieszcyk S, Ain KB and Refetoff S. Serum thyrotropin and prolactin in the syndrome of generalized resistance to thyroid hormone: responses to thyrotrophin-releasing hormone stimulation and triiodothyronine suppression. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1305-11.
246. Ercan-Fang S, Schwartz HL, Mariash CN and Oppenheimer JH. Quantitative assessment of pituitary resistance to thyroid hormone from plots of the logarithm of thyrotropin versus serum free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2299-303.
247. Safer JD, Colan SD, Fraser LM and Wondisford FE. A pituitary tumor in a patient with thyroid hormone resistance: a diagnostic dilemma. *Thyroid* 2001;11:281-91.
248. Marcocci C and Chiovato L. 2000. Thyroid-directed antibodies. In *Thyroid*. B. L. a. U. RD, editor. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 414-31.
249. Chiovato L, Bassi P, Santini F, Mammoli C, Lapi P, Carayon P and Pinchera A. Antibodies producing complement-mediated thyroid cytotoxicity in patients with atrophic or goitrous autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1700-5.
250. Guo J, Jaume JC, Rapoport B and McLachlan SM. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG1, but not IgG4, autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:925-31.
251. Doullay F, Ruf J, Codaccioni JL and Carayon P. Prevalence of autoantibodies to thyroperoxidase in patients with various thyroid and autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991;9:237-44.
252. Radetti G, Persani L, Moroder C, Cortelazzi D, Gentili L, Beck-Peccoz P. Transplacental passage of anti-thyroid autoantibodies in a pregnant woman with auto-immune thyroid disease. *Prenatal Diagnosis* 1999;19:468-71.
253. Heithorn R, Hauffa BP and Reinwein D. Thyroid antibodies in children of mothers with autoimmune thyroid disorders. *Eur J Pediatr* 1999;158:24-8.
254. Feldt-Rasmussen. Anti-thyroid peroxidase antibodies in thyroid disorders and non thyroid autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991;9:245-51.
255. Mariotti S, Chiovato L, Franceschi C and Pinchera A. Thyroid autoimmunity and aging. *Exp Gerontol* 1999;33:535-41.
256. Ericsson UB, Christensen SB and Thorell JI. A high prevalence of thyroglobulin autoantibodies in adults with and without thyroid disease as measured with a sensitive solid-phase immunosorbent radioassay. *Clin Immunol Immunopathol* 1985;37:154-62.
257. Feldt-Rasmussen U, Hoier-Madsen M, Rasmussen NG, Hegedus L and Hornnes P. Anti-thyroid peroxidase antibodies during pregnancy and postpartum. Relation to postpartum thyroiditis. *Autoimmunity* 1990;6:211-4.
258. Premawardhana LD, Parkes AB, AMMARI F, John R, Darke C, Adams H and Lazarus JH. Postpartum thyroiditis and long-term thyroid status: prognostic influence of Thyroid Peroxidase Antibodies and ultrasound echogenicity. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:71-5.
259. Johnston AM and Eagles JM. Lithium-associated clinical hypothyroidism. Prevalence and risk factors. *Br. J Psychiatry* 1999;175:336-9.

260. Bell TM, Bansal AS, Shorthouse C, Sandford N and Powell EE. Low titre autoantibodies predict autoimmune disease during interferon alpha treatment of chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:419-22.
261. Ward DL and Bing-You RG. Autoimmune thyroid dysfunction induced by interfereon-alfa treatment for chronic hepatitis C: screening and monitoring recommendations. *Endoc Pract* 2001;7:52-8.
262. Carella C, Mazziotti G, Morisco F, Manganella G, Rotondi M, Tuccillo C, Sorvillo F, Caporaso N and Amato G. Long-term outcome of interferon-alpha-induced thyroid autoimmunity and prognostic influence of thyroid autoantibody pattern at the end of treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1925-9.
263. Feldt-Rasmussen U, Schleusener H and Carayon P. Meta-analysis evaluation of the impact of thyrotropin receptor antibodies on long term remission after medical therapy of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:98-103.
264. Estienne V, Duthoit C, Di Costanzo, Lejeune PJ, Rotondi M, Kornfeld S et al. Multicenter study on TGPO autoantibodies prevalence in various thyroid and non-thyroid diseases: relationships with thyroglobulin and thyroperoxidase autoantibody parameters. *Eur J Endocrinol* 1999;141:563-9.
265. Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. *FEBS Lett* 1985;190:147-52.
266. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G and Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:661-9.
267. Rubello D, Pozzan GB, Casara D, Girelli ME, Boccato s, Rigon F, Baccichetti C, Piccolo M, Betterle C and Busnardo B. Natural course of subclinical hypothyroidism in Down's syndrome: prospective study results and therapeutic considerations. *J Endocrinol Invest* 1995;18:35-40.
268. Karlsson B, Gustafsson J, Hedov G, Ivarsson SA and Anneren G. Thyroid dysfunction in Down's syndrome: relation to age and thyroid autoimmunity. *Arch Dis Child* 1998;79:242-5.
269. Bussen S, Steck T and Dietl J. Increased prevalence of thyroid antibodies in euthyroid women with a history of recurrent in-vitro fertilization failure. *Hum Reprod* 2000;15:545-8.
270. Phan GQ, Attia P, Steinberg SM, White DE and Rosenberg SA. Factors associated with response to high-dose interleukin-2 in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2001;19:3477-82.
271. Durelli L, Ferrero B, Oggero A, Verdun E, Ghezzi A, Montanari E and Zaffaroni M. Thyroid function and autoimmunity during interferon-Beta-1b Treatment: a Multicenter Prospective Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3525-32.
272. Roti E, Minelli R, Giuberti T, Marchelli C, Schianchi C, Gardini E, Salvi M, Fiaccadori F, Ugolotti G, Neri TM and Braverman LE. Multiple changes in thyroid function in patients with chronic active HCV hepatitis treated with recombinant interferon-alpha. *Am J Med* 1996;101:482-7.
273. Ruf J, Carayon P and Lissitzky S. Various expression of a unique anti-human thyroglobulin antibody repertoire in normal state and autoimmune disease. *Eur J Immunol* 1985;15:268-72.
274. Ruf J, Toubert ME, Czarnocka B, Durand-Gorde JM, Ferrand M, Carayon P. Relationship between immunological structure and biochemical properties of human thyroid peroxidase. *Endocrinol* 1989;125:1211-8.
275. Feldt-Rasmussen U and Rasmussen A K. Serum thyroglobulin (Tg) in presence of thyroglobulin autoantibodies (TgAb). Clinical and methodological relevance of the interaction between Tg and TgAb in vivo and in vitro. *J Endocrinol Invest* 1985;8:571-6.
276. Spencer CA, Wang C, Fatemi S, Guttler RB, Takeuchi M and Kazarosyan M. Serum Thyroglobulin Autoantibodies: Prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1121-7.
277. Pacini F, Mariotti S, Formica N and Elisei R. Thyroid autoantibodies in thyroid cancer: Incidence and relationship with tumor outcome. *Acta Endocrinol* 1988;119:373-80.
278. Rubello D, Casara D, Girelli ME, Piccolo M and Busnardo B. Clinical meaning of circulating antithyroglobulin antibodies in differentiated thyroid cancer: a prospective study. *J Nucl Med* 1992;33:1478-80.
279. Nordyke RA, Gilbert FI, Miyamoto LA and Fleury KA. The superiority of antimicrosomal over antithyroglobulin antibodies for detecting Hashimoto's thyroiditis. *Arch Intern Med* 1993;153:862-5.

- 280.Di Cerbo A, Di Paola R, Menzaghi C, De Filippis V, Tahara K, Corda D et al. Graves' immunoglobulins activate phospholipase A2 by recognizing specific epitopes on the thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3283-92.
- 281.Kung AWC, Lau KS and Kohn LD. Epitope mapping of TSH Receptor-blocking antibodies in Graves' disease that appear during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3647-53.
- 282.Ueta Y, Fukui H, Murakami M, Yamanouchi Y, Yamamoto R, Murao A et al. Development of primary hypothyroidism with the appearance of blocking-type antibody to thyrotropin receptor in Graves' disease in late pregnancy. *Thyroid* 1999;9:179-82.
- 283.Gupta MK. Thyrotropin-receptor antibodies in thyroid diseases: advances in detection techniques and clinical application. *Clin Chem Acta* 2000;293:1-29.
- 284.Kung AW, Lau KS and Kohn LD. Characterization of thyroid-stimulating blocking antibodies that appeared during transient hypothyroidism after radioactive iodine therapy. *Thyroid* 2000;10:909-17.
- 285.Filetti S, Foti D, Costante G and Rapoport B. Recombinant human thyrotropin (TSH) receptor in a radioreceptor assay for the measurement of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:1096-101.
- 286.Adams DD and Purves HD. Abnormal responses in the assay of thyrotropin. *Proc Univ Otago Med Sch* 1956;34:11-12.
- 287.Morgenthaler NG. New assay systems for thyrotropin receptor antibodies. *Current Opinion Endocrinol Diabetes* 1998;6:251-60.
- 288.Kamijo K, Nagata A and Sato Y. Clinical significance of a sensitive assay for thyroid-stimulating antibodies in Graves' disease using polyethylene glycol at high concentration and porcine thyroid cells. *Endocrinol J* 1999;46:397-403.
- 289.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.
- 290.Costagliola S, Swillens S, Niccoli P, Dumont JE, Vassart G and Ludgate M. Binding assay for thyrotropin receptor autoantibodies using the recombinant receptor protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1540-44.
- 291.Morgenthaler NG, Hodak K, Seissler J, Steinbrenner H, Pampel I, Gupta M et al. Direct binding of thyrotropin receptor autoantibody to in vitro translated thyrotropin receptor: a comparison to radioreceptor assay and thyroid stimulating bioassay. *Thyroid* 1999;9:466-75.
- 292.Akamizu T, Inoue D, Kosugi S, Kohn LD and Mori T. Further studies of amino acids (268-304) in thyrotropin (TSH)-lutropin/chorionic gonadotropin (LH/CG) receptor chimeras: Cysteine-301 is important in TSH binding and receptor tertiary structure. *Thyroid* 1994;4:43-8.
- 293.Grasso YZ, Kim MR, Faiman C, Kohn LD, Tahara K and Gupta MK. Epitope heterogeneity of thyrotropin-blocking antibodies in Graves' patients as detected with wild-type versus chimeric thyrotropin receptors. *Thyroid* 1999;9:521-37.
- 294.Kim WB, Chung HK, Lee HK, Kohn LD, Tahara K and Cho BY. Changes in epitopes for thyroid stimulation antibodies in Graves' disease sera during treatment of hyperthyroidism: Therapeutic implications. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1953-9.
- 295.Shewring G and Smith BR. An improved radioreceptor assay for TSH receptor. *Methods Enzymol* 1982;17:409-17.
- 296.Costagliola S, Morgenthaler NG, Hoermann R, Badenhoop K, Struck J, Freitag D, Poertl S, Weglohner W, Hollidt JM, Quadbeck B, Dumont JE, Schumm-Draeger PM, Bergmann A, Mann K, Vassart G and Usadel KH. Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:90-7.
- 297.Schott M, Feldkamp J, Bathan C, Fritzen R, Scherbaum WA and Seissler J. Detecting TSH-Receptor antibodies with the recombinant TBII assay: Technical and Clinical evaluation. *32* 2000;:429-35.
- 298.Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin and thyrotropin receptor. *Clin Chem* 1996;42:160-3.
- 299.Giovanella L, Ceriani L and Garancini S. Clinical applications of the 2nd. generation assay for anti-TSH receptor antibodies in Graves' disease. Evaluation in patients with negative 1st. generation test. *Clin Chem Lab med* 2001;39:25-8.
- 300.Momotani N, Noh JY, Ishikawa N and Ito K. Effects of propylthiouracil and methimazole on fetal thyroid status in mothers with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3633-6.

301. Brown RS, Bellisario RL, Botero D, Fournier L, Abrams CA, Cower 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.
302. Gerding MN, van der Meer Jolanda WC, Broenink M, Bakker O, W. WM and Prummel MF. Association of thyrotropin receptor antibodies with the clinical features of Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol* 2000;52:267-71.
303. Bartelena L, Marcocci C, Bogazzi F, Manetti L, Tanda ML, Dell'Unto E et al. Relation between therapy for hyperthyroidism and the course of Graves' disease. *N Engl J Med* 1998;338:73-8.
304. Bech K. Immunological aspects of Graves' disease and importance of thyroid stimulating immunoglobulins. *Acta Endocrinol (Copenh) Suppl* 1983;103:5-38.
305. Feldt-Rasmussen U. Serum thyroglobulin and thyroglobulin autoantibodies in thyroid diseases et al. *ergy* 1983;38:369-87.
306. Nygaard B, Metcalfe RA, Phipps J, Weetman AP and Hegedus L. Graves' disease and thyroid-associated ophthalmopathy triggered by ¹³¹I treatment of non-toxic goitre. *J Endocrinol Invest* 1999;22:481-5.
307. Ericsson UB, Tegler L, Lennquist S, Christensen SB, Stahl E and Thorell JI. Serum thyroglobulin in differentiated thyroid carcinoma. *Acta Chir Scand* 1984;150:367-75.
308. Haugen BR, Pacini F, Reiners C, Schlumberger M, Ladenson PW, Sherman SI, Cooper DS, Graham KE, Braverman LE, Skarulis MC, Davies TF, DeGroot LJ, Mazzaferri EL, Daniels GH, Ross DS, Luster M, Samuels MH, Becker DV, Maxon HR, Cavalieri RR, Spencer CA, McEllin K, Weintraub BD and Ridgway EC. A comparison of recombinant human thyrotropin and thyroid hormone withdrawal for the detection of thyroid remnant or cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3877-85.
309. Spencer CA, LoPresti JS, Fatemi S and Nicoloff JT. Detection of residual and recurrent differentiated thyroid carcinoma by serum Thyroglobulin measurement. *Thyroid* 1999;9:435-41.
310. Schlumberger M, C. P., Fragu P, Lumbroso J, Parmentier C and Tubiana M. Circulating thyrotropin and thyroid hormones in patients with metastases of differentiated thyroid carcinoma: relationship to serum thyrotropin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51:513-9.
311. Pacini F, Fugazzola L, Lippi F, Ceccarelli C, Centoni R, Miccoli P, Elisei R and 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 Metab* 1992;74:1401-4.
312. Spencer CA, Takeuchi M and Kazarosyan M. Current Status and Performance Goals for Serum Thyroglobulin Assays. *Clin Chem* 1996;42:164-73.
313. Feldt-Rasmussen U and Schlumberger M. European interlaboratory comparison of serum thyroglobulin measurement. *J Endocrinol Invest* 1988;11:175-81.
314. Feldt-Rasmussen U, Profilis C, Colinet E, Black E, Bornet H, Bourdoux P et al. Human thyroglobulin reference material (CRM 457) 2nd part: Physicochemical characterization and certification. *Ann Biol Clin* 1996;54:343-348.
315. Schlumberger M J. Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *NEJM* 1998;338:297-306.
316. Hijiyanakis P, Mundy J and Harmer C. Thyroglobulin antibodies in differentiated thyroid cancer. *Clin Oncol* 1999;11:240-4.
317. Spencer CA. Recoveries cannot be used to authenticate thyroglobulin (Tg) measurements when sera contain Tg autoantibodies. *Clin Chem* 1996;42:661-3.
318. Massart C and Maugendre D. Importance of the detection method for thyroglobulin antibodies for the validity of thyroglobulin measurements in sera from patients with Graves' disease. *Clin Chem* 2002;48:102-7.
319. Mariotti S, Barbesino G, Caturegli P, Marino M, Manetti L, Pacini F, Centoni R and Pinchera A. Assay of thyroglobulin in serum with thyroglobulin autoantibodies: an unobtainable goal? *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:468-72.
320. Black EG and Hoffenberg R. Should one measure serum thyroglobulin in the presence of anti-thyroglobulin antibodies? *Clin Endocrinol* 1983;19:597-601.
321. Schneider AB and Pervos R. Radioimmunoassay of human thyroglobulin: effect of antithyroglobulin autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1978;47:126-37.
322. Spencer CA, Platler BW and Nicoloff JT. The effect of ¹²⁵-I thyroglobulin tracer heterogeneity on serum Tg RIA measurement. *Clin Chem Acta* 1985;153:105-115.
323. Bugalho MJ, Domingues RS, Pinto AC, Garrao A, Catarino AL, Ferreira T, Limbert E and Sobrinho L. Detection of thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of individuals with and without

- thyroid glands: evidence for thyroglobulin expression by blood cells. *Eur J Endocrinol* 2001;145:409-13.
324. Bellantone R, Lombardi CP, Bossola M, Ferrante A, Princi P, Boscherini M et al. Validity of thyroglobulin mRNA assay in peripheral blood of postoperative thyroid carcinoma patients in predicting tumor recurrence varies according to the histologic type: results of a prospective study. *Cancer* 2001;92:2273-9.
325. Bojunga J, Roddiger S, Stanisch M, Kusterer K, Kurek R, Renneberg H, Adams S, Lindhorst E, Usadel KH and Schumm-Draeger PM. Molecular detection of thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of patients with thyroid disease by RT-PCR. *Br J Cancer* 2000;82:1650-5.
326. Smith B, Selby P, Southgate J, Pittman K, Bradley C and Blair GE. Detection of melanoma cells in peripheral blood by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction. *Lancet* 1991;338:1227-9.
327. Luppi M, Morselli M, Bandieri E, Federico M, Marasca R, Barozzi P, Ferrari MG, Savarino M, Frassoldati A and Torelli G. Sensitive detection of circulating breast cancer cells by reverse-transcriptase polymerase chain reaction of maspin gene. *Ann Oncol* 1996;7:619-24.
328. Ghossein RA and Bhattacharya S. Molecular detection and characterisation of circulating tumour cells and micrometastases in solid tumours. *Eur J Cancer* 2000;36:1681-94.
329. Ditkoff BA, Marvin MR, Yemul S, Shi YJ, Chabot J, Feind C et al. Detection of circulating thyroid cells in peripheral blood. *Surgery* 1996;120:959-65.
330. Arturi F, Russo D, Giuffrida D et al. Early diagnosis by genetic analysis of differentiated thyroid cancer metastases in small lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1638-41.
331. Ringel MD, Balducci-Silano PL, Anderson JS, Spencer CA, Silverman J, Sparling YH, Francis GL, Burman KD, Wartofsky L, Ladenson PW, Levine MA and Tuttle RM. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction of circulating thyroglobulin messenger ribonucleic acid for monitoring patients with thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;84:4037-42.
332. Biscolla RP, Cerutti JM and Maciel RM. Detection of recurrent thyroid cancer by sensitive nested reverse transcription-polymerase chain reaction of thyroglobulin and sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid transcripts in peripheral blood. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3623-7.
333. Takano T, Miyauchi A, Yoshida H, Hasegawa Y, Kuma K and Amino N. Quantitative measurement of thyroglobulin mRNA in peripheral blood of patients after total thyroidectomy. *Br J Cancer* 2001;85:102-6.
334. Chelly J, Concordet JP, Kaplan JC and Kahn A. Illegitimate transcription: transcription of any gene in any cell type. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:2617-21.
335. Premawardhana LDKE, Phillips DW, Prentice LM and Smith BR. Variability of serum thyroglobulin levels is determined by a major gene. *Clin Endocrinol* 1994;41:725-9.
336. Bertelsen JB and Hegedus L. Cigarette smoking and the thyroid. *Thyroid* 1994;4:327-31.
337. Knudsen N, Bulow I, Jorgensen T, Perrild H, Oversen L and Laurberg P. Serum Tg - a sensitive marker of thyroid abnormalities and iodine deficiency in epidemiological studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3599-603.
338. Van den Briel T, West CE, Hautvast JG, Vulsma T, de Vijlder JJ and Ategbo EA. Serum thyroglobulin and urinary iodine concentration are the most appropriate indicators of iodine status and thyroid function under conditions of increasing iodine supply in schoolchildren in Benin. *J Nutr* 2001;131:2701-6.
339. Gardner DF, Rothman J and Utiger RD. Serum thyroglobulin in normal subjects and patients with hyperthyroidism due to Graves' disease: effects of T3, iodide, ¹³¹I and antithyroid drugs. *Clin Endocrinol* 1979;11:585-94.
340. Feldt-Rasmussen U, Petersen PH, Date J and Madsen CM. Serum thyroglobulin in patients undergoing subtotal thyroidectomy for toxic and nontoxic goiter. *J Endocrinol Invest* 1982;5:161-4.
341. Hocevar M, Auersperg M and Stanovnik L. The dynamics of serum thyroglobulin elimination from the body after thyroid surgery. 1997;23:208-10.
342. Cohen JH, Ingbar SH and Braverman LE. Thyrotoxicosis due to ingestion of excess thyroid hormone. *Endocrine Rev* 1989;10:113-24.
343. Mitchell ML and Hermos RJ. Measurement of thyroglobulin in newborn screening specimens from normal and hypothyroid infants. *Clin Endocrinol* 1995;42:523-7.

344. Smallridge RC, De Keyser FM, Van Herle AJ, Butkus NE and Wartofsky L. Thyroid iodine content and serum thyroglobulin: clues to the natural history of destruction-induced thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:1213-9.
345. Pacini F, Molinaro E, Lippi F, Castagna MG, Agate L, Ceccarelli C, Taddei D, Elisei R, Capezzone M and Pinchera A. Prediction of disease status by recombinant human TSH-stimulated serum Tg in the postsurgical follow-up of differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5686-90.
346. Cobin RH. 1992. Medullary carcinoma of the thyroid. In *Malignant tumors of the thyroid: clinical concepts and controversies*. S. D. Cobin RH, editor. Springer-Verlag, New York. 112-41.
347. Dunn JT. When is a thyroid nodule a sporadic medullary carcinoma? *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:824-5.
348. Pacini F, Fontanelli M, Fugazzola L and et. al. Routine measurement of serum calcitonin in nodular thyroid diseases allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:826-9.
349. Mulligan LM, Kwok JB, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E et al. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature* 1993;363:458-60.
350. Hofstra RM, Landvaster RM, Ceccherini I et al. A mutation in the RET proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma. *Nature* 1994;367:375-6.
351. Heyningen van V. One gene-four syndromes. *Nature* 1994;367:319-20.
352. Becker KL, Nylen ES, Cohen R and Snider RH. Calcitonin: structure, molecular biology and actions. In: J.P. Belezianian, L.E. Raisz, G.A. Rodan eds. *Principle of bone biology*, Academic Press, San Diego 1996;:471-4.
353. Motte P, Vauzelle P, Gardet P, Ghillani P, Caillou B, Parmentier C et al. Construction and clinical validation of a sensitive and specific assay for mature calcitonin using monoclonal anti-peptide antibodies. *Clin Chim Acta* 1988;174:35-54.
354. Zink A, Blind E and Raue F. Determination of serum calcitonin by immunometric two-site assays in normal subjects and patients with medullary thyroid carcinoma. *Eur J Clin Chem Biochem* 1992;30:831-5.
355. Engelbach M, Gorges R, Forst T, Pfitzner A, Dawood R, Heerdt S, Kunt T, Bockisch A and Beyer J. Improved diagnostic methods in the follow-up of medullary thyroid carcinoma by highly specific calcitonin measurements. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1890-4.
356. Milhaud G, Tubiana M, Parmentier C and Coutiris G. Epithelioma de la thyroïde secretant de la thyrocalcitonine. *C.R. Acad. Sci (serie D)*, Paris 1968;266:608-10.
357. Guilloteau D, Perdrisot D, Calmettes C and et. al. Diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid by calcitonin assay using monoclonal antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1064-7.
358. Niccoli P, Wion-Barbot N, Caron P and et al. Interest of routine measurement of serum calcitonin (CT): study in a large series of thyroidectomized patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:338-41.
359. Wells SA, Baylin SB, Linehan W, Farrell RE, Cox EB, Cooper CW. Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* 1978;188:139-41.
360. Gagel RF. The abnormal pentagastrin test. *Clin Endocrinol* 1996;44:221-2.
361. Wion-Barbot N, Schuffenecker I, Niccoli P et al. Results of the calcitonin stimulation test in normal volunteers compared with genetically unaffected members of MEN 2A and familial medullary thyroid carcinoma families. *Ann Endocrinol* 1997;58:302-8.
362. Barbot N, Calmettes C, Schuffenecker I et al. Pentagastrin stimulation test and early diagnosis of medullary carcinoma using an immunoradiometric assay of calcitonin: comparison with genetic screening in hereditary medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:114-20.
363. Erdogan MF, Gullu S, Baskal N, Uysal AR, Kamel N, Erdogan G. Omeprazole: calcitonin stimulation test for the diagnosis follow-up and family screening in medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* 1997;188:139-41.
364. Vieira AEF, Mello MP, Elias LLK et al. Molecular and biochemical screening for the diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia Type 2A. *Horm Metab Res* 2002;34:202-6.
365. Wells SA, Chi DD, Toshima K, Dehner LP, Coffin CM, Dowton SB, Ivanovich JL, DeBenedetti MK, Dilley WG and Moley JF. Predictive DNA testing and prophylactic thyroidectomy in patients at risk for multiple endocrine neoplasia type 2A. *Ann Surg* 1994;220:237-50.

366. Telander RL and Moir CR. Medullary thyroid carcinoma in children. *Semin Pediatr Surg* 1994;3:188-93.
367. Niccoli-Sire P, Murat A, Baudin E, Henry JF, Proye C, Bigorgne JC et al. Early or prophylactic thyroidectomy in MEN2/FMTC gene carriers: results in 71 thyroidectomized patients. *Eur J Endocrinol* 1999;141:468-74.
368. Niccoli-Sire P, Murat A, Rohmer V, Franc S, Chabrier G, Baldet L, Maes B, Savagner F, Giraud S, Beziau S, Kottler ML, Morange S and Conte-Devolx B. Familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) with non-cysteine RET mutations: phenotype-genotype relationship in large series of patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3756-53.
369. Body JJ, Chanoine JP, Dumon JC and Delange F. Circulating calcitonin levels in healthy children and subjects with congenital hypothyroidism from birth to adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:565-7.
370. Gharib H, Kao PC and Heath H. Determination of silica-purified plasma calcitonin for the detection and management of medullary thyroid carcinoma: comparison of two provocative tests. *Mayo Clin Proc* 1987;62:373-8.
371. Telander R, Zimmerman D, Sizemore GW, van Heerden JA and Grant CS. Medullary carcinoma in children. Results of early detection and surgery. *Arch Surg* 1989;124:841-3.
372. Calmettes C, Ponder BA, Fisher JA and Raue F. Early diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 2 syndrome: consensus statement. European community concerted action: medullary thyroid carcinoma. *Eur J Clin Invest* 1992;22:755-60.
373. Modigliani E, Cohen R, Campos JM, Conte-Devolx B, Maes B, Boneu A et al. Prognostic factors for survival and biochemical cure in medullary thyroid carcinoma: results in 899 patients. *Clin Endocrinol* 1998;48:265-73.
374. Machens A, Gimm O, Ukkat J et al. Improved prediction of calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma patients by quantitative lymph node analysis. *Cancer* 2000;88:1909-15.
375. Fugazzola L, Pinchera A, Lucchetti F et al. Disappearance rate of serum calcitonin after total thyroidectomy for medullary thyroid carcinoma. *Internat J Biolog Markers* 1994;9:21-4.
376. Vierhapper H, Raber W, Bieglmayer C and et al. Routine measurement of plasma calcitonin in nodular thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1589-93.
377. Ferreira-Valbuena H, Fernandez de Arguello E, Campos G, Ryder E and Avellaneda A. Serum concentration of calcium and calcitonin in hyperthyroidism caused by Graves' disease. *Invest Clin* 1991;32:109-14.
378. Lips CJM, Hoppener JWM and Thijssen JHH. Medullary thyroid carcinoma: role of genetic testing and calcitonin measurement. *Ann Clin Biochem* 2001;38:168-79.
379. Niccoli P, Brunet Ph, Roubicek C, Roux F, Baudin E, Lejeune PJ et al. Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. *Eur J Endocrinol* 1995;132:75-81.
380. Snider RH, Nylén ES and Becker KL. Procalcitonin and its component peptides in systemic inflammation: immunochemical characterization. *J Invest Med* 1997;47:552-60.
381. Russwurm S, Wiederhold M, Oberhoffer M et al. Molecular aspects and natural source of Procalcitonin. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:789-97.
382. Niccoli P, Conte-Devolx B, Lejeune PJ, Carayon P, Henry JF, Roux F et al. Hypercalcitoninemia in conditions other than medullary cancers of the thyroid. *Ann Endocrinol* 1996;57:15-21.
383. Baudin E, Bidart JM, Rougier P et al. Screening for multiple endocrine neoplasia type 1 and hormonal production in apparently sporadic neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:114-20.
384. DeLellis RA. C-Cell hyperplasia. In: Rosai J., Carangiu M.L., DeLellis R.A. eds: *Atlas of Tumor Pathology*, 3rd. series, Fasc 5: tumors of the thyroid gland. Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology. 1992;:247-58.
385. Guyetant S, Wion-Barbot N and Rousselet MC. C-cell hyperplasia associated with chronic lymphocytic thyroiditis: a retrospective study of 112 cases. *Hum Pathol* 1994;25:514-21.
386. Albores-Saavedra J, Monforte H, Nadji M and Morales AR. C-Cell hyperplasia in thyroid tissue adjacent to follicular cell tumor. *Hum Pathol* 1988;19:795-9.
387. Mulligan LM, Marsh DJ, Robinson BG, Schuffenecker I, Zedenius J, Lips CJ et al. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2: report of the international RET mutation consortium. *J Intern Med* 1995;238:243-6.

- 388.Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF et al. The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis. *JAMA* 1996;276:1575-9.
- 389.Ito S, Iwashita T, Asai N, Murakami H, Iwata Y, Sobue G et al. Biological properties of RET with cysteine mutations correlate with multiple endocrine neoplasia type 2A, familial medullary thyroid carcinoma and Hirschsprung's disease phenotype. *Cancer Res* 1997;57:2870-2.
- 390.Heshmati HM, Gharib H, Khosla S et al. Genetic testing in medullary thyroid carcinoma syndromes: mutation types and clinical significance. *Mayo Clin Proc* 1997;72:430-6.
- 391.Berndt I, Reuter M, Saller B et al. A new hot spot for mutations in the RET proto-oncogene causing familial medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2A. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:770-4.
- 392.Komminoth P, Roth J, Muletta-Feurer S, Saremaslani P, Seelentag WKF and Heitz PU. RET proto-oncogene point mutations in sporadic neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2041-6.
- 393.Conte-Devolx B, Schuffenecker I, Niccoli P, Maes B, Boneu A, Barbot N et al. Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: Management of patients and subjects at risk. *Horm Res* 1997;47:221-6.
- 394.Smith DP, Houghton C and Ponder BA. Germline mutation of RET codon 883 in two cases of de novo MEN2B. *Oncogene* 1997;15:1213-7.
- 395.Carlson KM, Bracamontes J, Jackson CE, Clark R, Lacroix A, Wells SA Jr et al. Parent-of-origin effects in multiple endocrine neoplasia type 2B. *J Hum Genet* 1994;55:1076-82.
- 396.Moers AMJ, Landsvater RM, Schaap C, van Veen JM, de Valk IAJ, Blijham GH et al. Familial medullary thyroid carcinoma: not a distinct entity/ Genotype-phenotype correlation in a large family: familial medullary thyroid carcinoma revisited. *Am J Med* 1996;101:634-41.
- 397.Dunn JT. Iodine deficiency - the next target for elimination. *N Engl J Med* 1992;326:267-8.
- 398.Delange F. Correction of iodine deficiency: benefits and possible side effects. *Eur J Endocrinol* 1995;132:542-3.
- 399.Dunn JT. Whats happening to our iodine. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3398-3400.
- 400.Knudsen N, Christiansen E, Brandt-Christensen M, Nygaard B and Perrild H. Age- and sex-adjusted iodine/creatinine ratio. A new standard in epidemiological surveys? Evaluation of three different estimates of iodine excretion based on casual urine samples and comparison to 24 h values. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:361-3.
- 401.Aumont G and Tressol JC. Improved routine method for the determination of total iodine in urine and milk. *Analyst* 1986;111:841-3.
- 402.Unak P, Darcan S, Yurt F, Biber Z and Coker M. Determination of iodine amounts in urine and water by isotope dilution analysis. *Biol Trace Elem Res* Winter 1999;71-2:463-70.
- 403.Kilbane MT, Ajja RA, Weetman AP, Dwyer R, McDermott EWM, O'Higfins NJ and Smyth PPA. Tissue Iodine content and serum mediated 125I uptake blocking activity in breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1245-50.
- 404.Liberman CS, Pino SC, Fang SL, Braverman LE and Emerson CH. Circulating iodine concentrations during and after pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3545-9.
- 405.Vought RL, London WT, Lutwak L and Dublin TD. Reliability of estimates of serum inorganic iodine and daily faecal and urinary iodine excretion from single casual specimens. *J Clin Endocrinol Metab* 1963;23:1218-28.
- 406.Smyth PPA, Darke C, Parkes AB, Smith DF, Hetherington AM and Lazarus JH. Assessment of goitre in an area of endemic iodine deficiency. *Thyroid* 1999;9:895-901.
- 407.Thomson CD, Smith TE, Butler KA and Packer MA. An evaluation of urinary measures of iodine and selenium status. *J Trace Elem Med and Biol* 1996;10:214-22.
- 408.Als C, Helbling A, Peter K, Haldimann M, Zimmerli B and Gerber H. Urinary iodine concentration follows a circadian rhythm: A study with 3023 spot urine samples in adults and children. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1367-9.
- 409.Lightowler H and Davis JG. Iodine intake and iodine deficiency in vegans as assessed by the duplicate-portion technique and urinary iodine excretion. *Br. J Nutr* 1999;80:529-35.
- 410.Utiger RD. Maternal hypothyroidism and fetal development. *N Engl J Med* 1999;341:601-2.
- 411.Aboul-Khair S, Crooks J, Turnbull AC and Hytten FE. The physiological changes in thyroid function during pregnancy. *Clin Sci* 1964;27:195-207.

412. Smyth PPA, Smith DF, Radcliff M and O'Herlihy C. Maternal iodine status and thyroid volume during pregnancy: correlation with neonatal intake. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2840-3.
413. Gunton JE, Hams GH, Fiegert M and McElduff A. Iodine deficiency in ambulatory participants at a Sydney teaching hospital: Is Australia truly iodine replete? *Med J Aust* 1999;171:467-70.
414. Smyth PPA. Variation in iodine handling during normal pregnancy. *Thyroid* 1999;9:637-42.
415. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. National Academic Press 2001
416. Koutras DA, Papadoupoulos SN, Sfontouris JG and Rigopoulos GA. Comparison of methods for measuring the plasma inorganic iodine and the absolute iodine uptake by the thyroid gland. *J Clin Endocrinol Metab* 1968;28:757-60.
417. Mizukami Y, Michigishi T, Nonomura A, Hashimoto T, Tonami N, Matsubara F et al. Iodine-induced hypothyroidism: a clinical and histological study of 28 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:466-71.
418. Heymann WR. Potassium iodide and the Wolff-Chaikhoff effect: relevance for the dermatologist. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:490-2.s
419. Stanbury JB, Ermans AE, Bourdoux P, Todd C, Oken E, Tonglet R, Bidor G, Braverman LE and Medeiros-Neto G. Iodine-induced hyperthyroidism: occurrence and epidemiology. *Thyroid* 1998;8:83-100.
420. Roti E and Uberti ED. Iodine excess and hyperthyroidism. *Thyroid* 2001;5:493-500.
421. Baltisberger BL, Minder CE and Burgi H. Decrease of incidence of toxic nodular goitre in a region of Switzerland after full correction of mild iodine deficiency. *Eur J Endocrinol* 1995;132:546-9.
422. Bacher-Stier RG, Totsch M, Kemmler G, Oberaigner W and Moncayo R. Incidence and clinical characteristics of thyroid carcinoma after iodine prophylaxis in an endemic goiter country. *Thyroid* 1997;7:733-41.
423. Barakat MCD, Hetherton AM, Smyth PPA and Leslie H. Hypothyroidism secondary to topical iodine treatment in infants with spina bifida. *Acta Paediat* 1994;83:741-3.
424. Martino E, Safran M, Aghino-Lombardi F, Rajatanavin R, Lenziardi M, Fay M et al. Environmental iodine intake and thyroid dysfunction during chronic amiodarone therapy. *Ann Intern Med* 1984;101:28-34.
425. Rose NR, Rasooly L, Saboori AM and Burek CL. Linking iodine with autoimmune thyroiditis. *Environmental Health Perspectives* 1999;107:749-52.
426. Premawardhana LDKEPA, Smyth PPA, Wijeyaratne C, Jayasinghe A, De Silva H and Lazarus JH. Increased prevalence of thyroglobulin antibodies in Sri Lankan schoolgirls - is iodine the cause? *Eur J Endocrinol* 2000;143:185-8.
427. Costa A, Testori OB, Cenderelli C, Giribone G and Migliardi M. Iodine content of human tissues after administration of iodine containing drugs or contrast media. *J Endocrinol Invest* 1978;1:221-5.
428. May W, Wu D, Eastman C, Bourdoux P and Maberly G. Evaluation of automated urinary iodine methods: problems of interfering substances identified. *Clin Chem* 1990;35:865-9.
429. Lauber K. Iodine determination in biological material. Kinetic measurement of the catalytic activity of iodine. *Analyt Chem* 1975;47:769-71.
430. Mantel M. Improved method for the determination of iodine in urine. *Clin Chim Acta* 1971;33:39-44.
431. Dunn JT, Crutchfield HE, Gutenkunst R and Dunn AD. Two simple methods for measuring iodine in urine. *Thyroid* 1993;3:119-23.
432. May SL, May WA, Bourdoux PP, Pino S, Sullivan KM and Maberly GF. Validation of a simple, manual urinary iodine method for estimating the prevalence of iodine-deficiency disorders and interlaboratory comparison with other methods. *J Clin Nutr* 1997;65:1441-5.
433. Ohashi T, Yamaki M, Pandav SC, Karmarkar GM and Irie M. Simple microplate method for determination of urinary iodine. *Clin Chem* 2000;46:529-36.
434. Rendl J, Seybold S and Borner W. Urinary iodine determined by paired-ion reverse-phase HPLC with electrochemical detection. *Clin Chem* 1994;40:908-13.
435. Tsuda K, Namba H, Nomura T, Yokoyama N, Yamashita S, Izumi M and Nagataki S. Automated Measurement of urinary iodine with use of ultraviolet radiation. *Clin Chem* 1995;41:581-5.
436. Haldimann M, Zimmerli B, Als C and Gerber H. Direct determination of urinary iodine by inductively coupled plasma mass spectrometry using isotope dilution with iodine-129. *Clin Chem* 1998;44:817-24.

437. Mura P, Piriou A, Guillard O, Sudre Y and Reiss D. Dosage des iodures urinaires par electrode specifique: son interet au cours des dysthyroides. *Ann Biol Clin* 1985;44:123-6.
438. Allain P, Berre S, Krari N, Laine-Cessac P, Le Bouil A, Barbot N, Rohmer V and Bigorgne JC. Use of plasma iodine assays for diagnosing thyroid disorders. *J Clin Pathol* 1993;46:453-5.
439. Vander JB, Gaston EA and Dawber TR. The significance of nontoxic thyroid nodules: Final report of a 15-year study of the incidence of thyroid malignancy. *Ann Intern Med* 1968;69:537-40.
440. Rojeski MT and Gharib H. Nodular thyroid disease: Evaluation and management. *N Engl J Med* 1985;313:428-36.
441. Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med* 1993;328:553-9.
442. Kirkland RT and Kirkland JL. Solitary thyroid nodules in 30 children and report of a child with thyroid abscess. *Pediatrics* 1973;51:85-90.
443. Rallison ML, Dobyns EM, Keating FR, Rall J and Tyler E. Thyroid nodularity in children. *JAMA* 1975;233:1069-72.
444. Khurana KK, Labrador E, Izquierdo R, Mesonero CE and Pisharodi LR. The role of fine-needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules in children, adolescents and young adults: A multi-institutional study. *Thyroid* 1999;4:383-6.
445. Aghini-Lombardi F, Antonangeli L, Martino E, Vitti P, Maccherini D, Leoli F, Rago T, Grasso L, Valeriano R, Balestrieri A and Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescopanano Survey. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:561-6.
446. Hamburger JJ, Husain M, Nishiyama R, Nunez C and Solomon D. Increasing the accuracy of fine-needle biopsy for thyroid nodules. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:1035-41.
447. Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP, Mazzaferri E, McKee RF, Rosai J, Shah JP, Fremgen AM, Stewart AK and Holzer S. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the United States during 1996. *Cancer (Cytopathol)* 2000;89:202-17.
448. Leenhardt L, Hejblum G, Franc B, Du Pasquier Fediaevsky L, Delbot T, De Guillouze D, Menegaux F, Guillausseau C, Hoang C, Turpin G and Aurengo A. Indications and limits of ultrasound-guided cytology in the management of nonpalpable thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:24-8.
449. Braga M, Cavalcanti TC, Collaco LM and Graf H. Efficacy of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of complex thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4089-91.
450. Cochand-Priollet B, Guillausseau P, Chagnon S, Hoang C, Guillausseau-Scholer C, Chanson P, Dahan H, Warnet A, Tran Ba Huy PT and Valleur P. The diagnostic value of fine-needle aspiration biopsy under ultrasonography in nonfunctional thyroid nodules: a prospective study comparing cytologic and histologic findings. *Am J Med* 1994;97:152-7.
451. Takashima S, Fukuda H and Kobayashi T. Thyroid nodules: Clinical effect of ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy. *J Clin Ultrasound* 1994;22:535-42.
452. Gharib H. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules: Advantages, limitations and effect. *Mayo Clin Proc* 1994;69:44-9.
453. Hamberger B, Gharib H, Melton LF III, Goellner JR and Zinsmeister AR. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. Impact on thyroid practice and cost of care. *Am J Med* 1982;73:381-4.
454. Grant CS, Hay ID, Gough IR, McCarthy PM and Goellner JR. Long-term follow-up of patients with benign thyroid fine-needle aspiration cytologic diagnoses. *Surgery* 1989;106:980-6.
455. Liel Y and Barchana M. Long-term follow-up of patients with initially benign fine-needle aspirations. *Thyroid* 2001;11:775-8.
456. Belfiore A, La Rosa G, La Porta GA, Giuffrida D, Milazzo G, Lupo L, Regalbutto C and V. R. Cancer Risk in patients with cold thyroid nodules: Relevance of iodine intake, sex, age and multinodularity. *J Amer Med* 1992;93:363-9.
457. Tuttle RM, Lemar H and Burch HB. Clinical features associated with an increased risk of thyroid malignancy in patients with follicular neoplasia by fine-needle aspiration. *Thyroid* 1998;8:377-83.
458. Kumar H, Daykin J, Holder R, Watkinson JC, Sheppard M and Franklyn JA. Gender, clinical findings and serum thyrotropin measurements in the prediction of thyroid neoplasia in 1005 patients presenting with thyroid enlargement and investigated by fine-needle aspiration cytology. *Thyroid* 1999;11:1105-9.
459. Moosa M and Mazzaferri EL. Outcome of differentiated thyroid cancer diagnosed in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2862-6.
460. Oertel YC. A pathologist trying to help endocrinologists to interpret cytology reports from thyroid aspirates. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1459-61.

- 461.De Micco, Zoro P, Garcia S, Skoog L, Tani EM, C. PK and Henry JF. Thyroid peroxidase immunodetection as a tool to assist diagnosis of thyroid nodules on fine-needle aspiration biopsy. *Eur J Endocrinol* 1994;131:474-9.
- 462.Faroux MJ, Theobald S, Pluot M, Patey M and Menzies D. Evaluation of the monoclonal antithyroperoxidase MoAb47 in the diagnostic decision of cold thyroid nodules by fine-needle aspiration. *Pathol Res Pract* 1997;193:705-12.
- 463.Inohara H, Honjo Y, Yoshii T, Akahani S, Yoshida J, Hattori K, Okamoto S, Sawada T, Raz A and Kubo T. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer* 1999;85:2475-84.
- 464.Medeiros-Neto G, Nascimento MC, Bisi H, Alves VA, Longatto-Filho A and Kanamura CT. Differential reactivity for Galectin-3 in Hurthle Cell Adenomas and Carcinomas. *Endocr Pathol* 2001;12:275-9.
- 465.Saggiorato E, Cappia S, De Guili P, Mussa A, Pancani G, Caraci P, Angeli A and Orlandi F. Galectin - 3 as a presurgical immunocytochemical marker of minimally invasive follicular carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5152-8.
- 466.Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, Inohara H, Marandino F, Orkandi F, Nardi F, Vacchione A, Tecce R and Larsson O. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet* 2001;357:1644-50.
- 467.Goellner JR. Problems and pitfalls in thyroid cytology. *Monogr Pathol* 1997;39:75-93.
- 468.Oertel YC, O. J. Diagnosis of benign thyroid lesions: fine-needle aspiration and histopathologic correlation. *Ann Diagn Pathol* 1998;2:250-63.
- 469.Baldet L, Manderscheid JC, Glinoe D, Jaffiol C, Coste-Seignovet B and Percheron C. The management of differentiated thyroid cancer in Europe in 1988. Results of an international survey. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1989;120:547-58.
- 470.Baloch ZW, Fleisher S, LiVolsi VA and Gupta PK. Diagnosis of "follicular neoplasm": a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol* 2002;26:41-4.
- 471.Herrmann ME, LiVolsi VA, Pasha TL, Roberts SA, Wojcik EM and Baloch ZW. Immunohistochemical expression of Galectin-3 in benign and malignant thyroid lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:710-13.
- 472.Leteurtre E, Leroy Z, Pattou F, Wacrenier A, Carnaille B, Proye C and Lecomte-Houcke M. Why do frozen sections have limited value in encapsulated or minimally invasive follicular carcinoma of the thyroid? *Amer J Clin Path* 2001;115:370-4.
- 473.Stojadinovic A, Ghossein RA, Hoos A, Urist MJ, Spiro RH, Shah JP, Brennan MF, Shaha AR and Singh B. Hurthle cell carcinoma: a critical histopathologic appraisal. *J Clin Oncol* 2001;19:2616-25.
- 474.Carmeci C, Jeffrey RB, McDougall IR, Nowels KW and Weigel RJ. Ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid masses. *Thyroid* 1998;8:283-9.
- 475.Yang GCH, Liebeskind D and Messina AV. Ultrasound-guided fine-needle aspiration of the thyroid assessed by ultrafast papanicolaou stain: Data from 1135 biopsies with a two- six-year follow-up. *Thyroid* 2001;6:581-9.
- 476.Fisher DA, Dussault JH, Foley TP, Klein AH, LaFranchi S, Larsen PR, Mitchell NL, Murphey WH and Walfish PG. Screening for congenital hypothyroidism: results of screening one million North American infants. *J Pediatr* 1979;94:700.
- 477.Brown AL, Fernhoff PM, Milner J, McEwen C and Elsas LS. Racial differences in the incidence of congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 1981;99:934-.
- 478.LaFranchi SH, Dussault JH, Fisher DA, Foley TP and Mitchell ML. Newborn screening for congenital hypothyroidism: Recommended guidelines. *Pediatrics* 1993;91:1203-9.
- 479.Gruters A, Delange F, Giovannelli G, Klett M, Richiccioli P, Torresani T et al. Guidelines for neonatal screening programmes for congenital hypothyroidism. *Pediatr* 1993;152:974-5.
- 480.Toublanc JE. Guidelines for neonatal screening programs for congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr* 1999;88 Suppl 432:13-4.
- 481.Vulsma T, Gons MH and de Vijlder JJ. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med* 1989;321:13-6.
- 482.Gruneiro-Papendieck L, Prieto L, Chiesa A, Bengolea S, Bossi G and Bergada C. Usefulness of thyroxine and free thyroxine filter paper measurements in neonatal screening for congenital hypothyroidism of preterm babies. *J Med Screen* 2000;7:78-81.

483. Hanna DE, Krainz PL, Skeels MR, Miyahira RS, Sesser DE and LaFranchi SH. Detection of congenital hypopituitary hypothyroidism: Ten year experience in the Northwest Regional Screening Program. *J Pediatr* 1986;109:959-64.
484. Fisher DA. Hypothyroxinemia in premature infants: is thyroxine treatment necessary? *Thyroid* 1999;9:715-20.
485. Wang ST, Pizzalato S and Demshar HP. Diagnostic effectiveness of TSH screening and of T4 with secondary TSH screening for newborn congenital hypothyroidism. *Clin Chim Acta* 1998;274:151-8.
486. Delange F. Screening for congenital hypothyroidism used as an indicator of the degree of IDD and its control. *Thyroid* 1998;8:1185-92.
487. Law WY, Bradley DM, Lazarus JH, John R and Gregory JW. Congenital hypothyroidism in Wales (1982-93): demographic features, clinical presentation and effects on early neurodevelopment. *Clin Endocrinol* 1998;48:201-7.
488. Mei JV, Alexander JR, Adam BW and Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. *J Nutr* 2001;131:1631S-6S.
489. LaFranchi SH, Hanna CE, Krainz PL, Skeels MR, Miyahira RS and Sesser DE. Screening for congenital hypothyroidism with specimen collection at two time periods: Results of the Northwest Regional Screening Program. *J Pediatr* 1985;76:734-40.
490. Zakarija M, McKenzie JM and Eidson MS. Transient neonatal hypothyroidism: Characterization of maternal antibodies to the Thyrotropin Receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1239-46.
491. Matsuura N, Yamada Y, Nohara Y, Konishi J, Kasagi K, Endo K, Kojima H and Wataya K. Familial neonatal transient hypothyroidism due to maternal TSH-binding inhibitor immunoglobulins. *N Engl J Med* 1980;303:738-41.
492. McKenzie JM and Zakaria M. Fetal and neonatal hyperthyroidism and hypothyroidism due to maternal TSH receptor antibodies. *Thyroid* 1992;2:155-9.
493. Vogiatzi MG and Kirkland JL. Frequency and necessity of thyroid function tests in neonates and infants with congenital hypothyroidism. *Pediatr* 1997;100.
494. Pohlenz J, Rosenthal IM, Weiss RE, Jhiang SM, Burant C and Refetoff S. Congenital hypothyroidism due to mutations in the sodium/iodide symporter. Identification of a nonsense mutation producing a downstream cryptic 3' splice site. *J Clin Invest* 1998;101:1028-35.
495. Nordyke RA, Reppun TS, Mandanay LD, Wood JC, Goldstein AP and Miyamoto LA. Alternative sequences of thyrotropin and free thyroxine assays for routine thyroid function testing. Quality and cost. *Arch Intern Med* 1998;158:266-72.