

La diagnostica tiroidea

Il quesito del clinico - La risposta del laboratorio

R.M. Dorizzi^a, R. Castello^b

^aLaboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Ospedale di Forlì

^bDivisione di Endocrinologia e Malattie del Ricambio, Azienda Ospedaliera di Verona

Riassunto

Le tireopatie rappresentano la malattia endocrina più frequente, soprattutto nel sesso femminile. È stato stimato che in Italia circa il 50% della popolazione apparentemente sana presenti noduli tiroidei, il 15% un gozzo palpabile, il 10% alterazioni funzionali ed il 5% iper- o ipotiroidismo sintomatici. Negli anni recenti sono state proposte Linee Guida sui diversi aspetti della gestione delle tireopatie, in parte coerenti ma in parte confliggenti. Secondo l'U.S. Preventive Services Task Force "non è possibile stabilire al momento se prevalgono i benefici o i danni dello screening per tireopatie di adulti asintomatici". Il documento predisposto per la gestione delle tireopatie dal Programma Nazionale delle Linee guida presenta grande interesse pratico ed è stato sinteticamente riassunto anche per quanto riguarda la sezione relativa alle interferenze farmacologiche che sono numerose e rappresentano una importante complicazione della diagnostica tiroidea. Le strategie per la diagnostica di laboratorio di base delle tireopatie sono almeno due: quella imperniata sul TSH proposta da Klee venti anni fa e quella che prevede l'esecuzione di TSH ed FT4 che è stata riproposta recentemente dalla British Thyroid Association (BTA). La BTA raccomanda di usare questo approccio in tutte le situazioni in cui l'asse ipofisi-tiroide non è intatto o è instabile. Secondo la proposta di Klee il soggetto è classificato come eutiroideo se la concentrazione di TSH è all'interno dell'intervallo di riferimento e sono ese-

guiti esami ulteriori solo in quei pazienti in cui è al di fuori di questo. Il TSH risulta, infatti, l'indicatore più sensibile degli ipo- ed degli iper-tiroidismi lievi poiché la correlazione tra TSH e FT4 non è lineare; se l'FT4 si dimezza, il TSH non raddoppia ma aumenta di molte decine di volte. Un algoritmo automatico di questo tipo è stato adottato anche presso il nostro laboratorio nel 2003: l'accesso del paziente è unico e il campione raccolto è sufficiente per l'esecuzione di tutti gli esami che sono necessari (e sufficienti) all'iter diagnostico. Il paziente o il Sistema Sanitario Nazionale pagano solo la prestazione eseguita e necessaria per il caso specifico e i tempi di refertazione non subiscono ritardi. La valutazione della funzionalità tiroidea in gravidanza richiede attenzione particolare, poiché le richieste di tiroxina da parte del feto aumentano e i cambiamenti del sistema immunitario predispongono all'insorgenza di patologie autoimmuni ed influenzano il decorso di patologie di questo tipo in atto. La determinazione del TSH e della tireoglobulina (Tg) presentano ancora problemi, come la grande variabilità della sensibilità funzionale dei metodi commerciali e la disomogeneità degli intervalli di riferimento. La determinazione della Tg, che ha come unica applicazione il follow up dei pazienti tiroidectomizzati per cancro differenziato, risente dell'interferenza degli anticorpi anti-Tg. Anche la letteratura più recente ha confermato come il problema non sia ancora stato risolto.

Summary

The diagnosis of thyroid disease; the question of the clinician and the answer of the laboratorian

Thyroid diseases represent the most frequent endocrine disease especially in the women. It has been estimated that in Italy about 50% of population has thyroid nodules; 15% palpable goiter, 10% functional disorders and 5% symptomatic hypo- and hyperthyroidism. In the recent years

guidelines about the different aspects of the management, in some cases consistent, but in others conflicting, have been proposed. According to the U.S. Preventive Services Task Force it is not yet possible to estimate the benefits and the damages of the screening of the asymptomatic adults. The document prepared by the Guidelines National Program (including the section devoted to the several and important drugs interferences) has a great practical

interest and has been shortly summarized. There are at least two strategies for the laboratory diagnosis of thyroid disease; one proposed more than 20 years ago by Klee, based on TSH alone, and that recently re-proposed by the British Thyroid Association (BTA) based on both TSH and FT4. BTA recommends this approach when the pituitary-thyroid axis is damaged or is unstable. According to the Klee's proposal, the subject is classified as euthyroid when the TSH concentration is within the reference limits and further tests are carried out only when TSH concentration exceeds the reference limits. Really, TSH is the most sensitive indicator of mild hypo- and hyperthyroidism since the correlation between TSH and FT4 is not linear; when FT4 concentration falls 50%, TSH concentration does not double but rises many times more. Our laboratory adopted a similar automatic algorithm in 2003; the access of

the patient is unique and the collected sample is sufficient for carrying out all the needed (and sufficient) tests. The patient or the National Health System pay for the carried out tests needed for the specific patient and the report is not delayed. The pregnancy demands special care in thyroid function assessment because the fetus increases thyroxine requirements and the changes of the immune system increases the risk of autoimmune diseases and influence the history of autoimmune thyroid diseases. There are still problems in the assay of TSH and thyroglobulin (Tg) such as the great variation of the functional sensitivity of the commercial assays and the low homogeneity of the reference intervals. The assay of Tg, that has the single indication of the follow up of thyroidectomized patients, suffers from anti-Tg antibodies interferences. Also the most recent studies demonstrated that the problem is still unresolved.

Il quesito del clinico

Le tireopatie rappresentano la malattia endocrina più frequente, soprattutto nel sesso femminile. È stato stimato che in Italia circa il 50% della popolazione apparentemente sana presenti noduli tiroidei di diametro inferiore a un centimetro, il 15% un gozzo palpabile, il 10% alterazioni funzionali ed il 5% iper- o ipotiroidismo sintomatici¹ e la l-tiroxina continua ad essere uno dei principi attivi maggiormente prescritti nel nostro paese. Nelle nostre regioni l'ipotiroidismo è, di solito, di origine autoimmune e, nella forma spontanea, ha una prevalenza intorno all'1-2%; la sua frequenza aumenta con l'età e nella donna è dieci volte più frequente che nell'uomo². L'ipertiroidismo nelle aree iodio-replete è costituito in prevalenza dalla malattia autoimmune di Basedow; la prevalenza è compresa tra lo 0.5 ed il 2% e nella donna è dieci volte più frequente che nel maschio³.

Nella maggior parte delle disfunzioni tiroidee di gravità lieve-moderata l'esame clinico è poco sensibile e vi sono misure terapeutiche efficaci per impedirne sequele cliniche rilevanti^{4,5}. Nel corso degli anni sono stati proposti screening per le tireopatie, da applicare a sottogruppi selezionati di individui o alla popolazione generale, e Linee Guida sui diversi aspetti delle tireopatie⁶⁻¹⁸, in parte coerenti ma in parte configgenti, contribuendo a comportamenti diversi dei Laboratori e dei clinici. Una delle posizioni più equilibrate, per quanto riguarda lo screening, è quella della American Academy of Family Physicians¹³ che si basa sulle conclusioni raggiunte nel 2004 dall'U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF)¹⁴: *non è possibile stabilire al momento se prevalgono i benefici o i danni dello screening per tireopatie di adulti asintomatici. Esiste, infatti, qualche evidenza che la determinazione del TSH può rilevare delle patologie tiroidee subcliniche in soggetti asintomatici, ma le evidenze che la terapia abbia effetti importanti sull'outcome clinico negli adulti individuati con lo screening sono modeste. Secondo l'USPSTF, anche se la "resa" dello screening è maggiore in alcuni gruppi ad elevato rischio (come nel postpartum, nella sindrome di Down e nell'anziano), le evidenze che lo screening produca benefici clinicamente importanti sono scarse anche in questi gruppi. Esiste invece il rischio che risultati falsi positivi possano causare danni e vi sono evidenze di casi di sovratrattamento.*

Il documento per la gestione delle tireopatie predisposto dal Programma Nazionale delle Linee Guida (PNLG) presenta, a nostro avviso, grande interesse pratico e sarà di seguito sinteticamente riassunto. Il testo, che ha finalità eminentemente pratiche, è diviso nelle seguenti sezioni:

- Accertamento della funzione tiroidea nell'individuo asintomatico (screening)
- Gestione del paziente con iperplasia tiroidea (gozzo) o nodulo tiroideo
- Gestione dell'evoluzione dell'iperplasia tiroidea e del nodulo
- Diagnosi di ipotiroidismo
- Monitoraggio della terapia nell'ipotiroidismo
- Diagnosi ed inquadramento eziologico della tireotossicosi:
- Gestione della terapia con antitiroidei nell'immediato e nel lungo termine
- Approccio al problema "dolore" in sede tiroidea

Accertamento della funzione tiroidea nell'individuo asintomatico (screening)

La determinazione della sola tireotropina (TSH), con metodiche ad elevata sensibilità rappresenta l'esame di prima scelta per potere individuare sia un ipotiroidismo che una tireotossicosi, anche di modesta gravità (subclinici). La sensibilità del TSH è superiore a quella delle frazioni libere degli ormoni tiroidei in entrambe le condizioni. Una concentrazione di TSH "soppressa"/diminuita, oppure superiore a 10 mU/L, deve essere seguita dalla misurazione della concentrazione degli ormoni tiroidei per confermare la presenza di tireopatia e verificarne la gravità o documentare problematiche legate a patologia ipofisaria o malattie non tiroidee.

Gestione del paziente con iperplasia tiroidea (gozzo) o nodulo tiroideo

In questo caso, oltre alla determinazione del TSH, si deve valutare la morfologia della ghiandola con indagine ultrasonografica che consente di misurare le dimensioni dei lobi e delle eventuali formazioni nodulari e di verificare la eventuale presenza (ed aspetto) di noduli non palpabili. Nel

sospetto di patologie autoimmuni (gozzo a superficie irregolare e/o segni clinici di patologia autoimmune) o in presenza di TSH elevato, è utile la determinazione degli anticorpi anti-tireoperossidasi (TPO). Di fronte al frequentissimo reperto di un nodulo tiroideo, il clinico si pone tre quesiti diagnostici: accertamento della funzionalità, esclusione della natura neoplastica, valutazione volumetrica legata all'accertamento delle potenzialità evolutive compressive. L'esame clinico-anamnestico rende possibile l'identificazione di situazioni di maggiore o minore sospetto per la presenza di un tumore (ad esempio, anamnesi positiva per radioterapia in sede cervicale, presenza di neoplasia tiroidea accertata in famiglia, durezza della lesione, presenza di linfadenopatie satelliti, presenza di sintomi compressivi, recente incremento volumetrico). La scintigrafia è stata soppiantata dalla citologia su agoaspirato nella diagnosi di malignità delle lesioni nodulari e diventa indispensabile per valutare una eventuale autonomia funzionale. L'esame citologico è indispensabile nello studio di tutte le lesioni nodulari di diametro superiore al centimetro: la presenza di elementi clinici di sospetto è indicazione alla esecuzione immediata del prelievo per l'esame citologico. Il monitoraggio della iperplasia tiroidea (gozzo) semplice o nodulare si basa sulla determinazione del TSH (ed FT4 se il paziente è in trattamento soppressivo) ed ecografia a cadenza circa annuale-biennale mentre un nuovo esame citologico è indicato solo nel caso di comparsa di nuove lesioni nodulari o di aumento di lesioni pre-esistenti. Per quanto riguarda la diagnostica del nodulo tiroideo può essere di interesse l'attenzione dedicata dalle linee guida AACE/AME agli aspetti laboratoristici¹⁰. Infatti esse raccomandano: 1) la determinazione del TSH; 2) l'impiego di un metodo con specifiche caratteristiche di prestazioni (raccomandazione di tipo B); 3) la determinazione dell'FT4, ed eventualmente dell'FT3, se il TSH è diminuito; la determinazione di FT4 e di anticorpi anti-TPO se è aumentato (raccomandazione di tipo C); 4) di non determinare la tireoglobulina (raccomandazione di tipo C); 5) di misurare la calcitonina solo se agospirato o anamnesi familiare lo suggeriscono (raccomandazione di tipo B).

Gestione dell'evoluzione dell'iperplasia tiroidea e del nodulo

Anche in questo caso vanno richiesti TSH ed ecografia a cadenza circa annuale-biennale, mentre l'esame citologico va riservato ai casi in cui compaiono nuove lesioni nodulari. Anche se l'esame citologico può essere richiesto in qualsiasi momento della storia clinica del nodulo tiroideo, la ripetizione routinaria dell'esame citologico su lesioni non sospette non è indicata. La determinazione della tireoglobulina (Tg) o la ricerca degli anticorpi antitiroidei non hanno alcun ruolo nella strategia di base per il follow-up delle tireopatie iperplastiche.

Diagnosi di ipotiroidismo

La determinazione del TSH è l'esame più importante e, nella maggior parte dei casi, sufficiente. In casi particolari, come quando la concentrazione di TSH è bassa-normale nonostante una clinica suggestiva di ipotiroidismo, è utile la determinazione del T4 libero. La ricerca degli anticorpi anti-TPO non fornisce indicazioni diagnostiche per l'an-

damento della funzione tiroidea ma solo indicazioni sulla possibile patogenesi autoimmune della malattia.

Monitoraggio della terapia nell'ipotiroidismo

L'ipotiroidismo è trattato di solito con somministrazione orale di l-tiroxina sodica sintetica e la concentrazione dell'FT4 deve essere controllata non prima di un mese dopo l'inizio della terapia o la modifica della posologia (il raggiungimento dello stato di equilibrio può richiedere anche tempi più lunghi) a causa della lunga emivita della l-tiroxina (sei giorni vs uno della tri-iodotironina). L'obiettivo della terapia è quello di mantenere il TSH all'interno dell'intervallo di riferimento, mentre va evitata una eccessiva diminuzione della concentrazione di TSH. Il documento del PNLG ricorda l'opportunità che i pazienti non interrompano la terapia in occasione del prelievo e che assumano la compressa di l-tiroxina, solo a prelievo eseguito (la concentrazione misurata poche ore dopo l'assunzione può risultare falsamente aumentata). Vi sono delle condizioni, per esempio l'ipotiroidismo centrale, in cui è la sola determinazione dell'FT4 che consente di dimostrare un sovradosaggio. Gli anticorpi anti-TPO, utili in fase di inquadramento eziopatogenetico, non forniscono indicazioni pratiche ai fini delle scelte terapeutiche che devono basarsi sulla concentrazione del TSH. Il TSH nei pazienti ipotiroidei in trattamento cronico stabilizzato deve essere misurato ogni 6-12 mesi (a meno di una clinica suggestiva o situazioni come gravidanza, trattamenti concomitanti con farmaci come l'amiodarone, o interferenti con l'assorbimento della tiroxina).

Diagnosi ed inquadramento eziologico della tireotossicosi

Anche se la tireotossicosi conclamata si presenta con dei segni clinici evidenti (tachicardia, tremori, dimagrimento), negli anziani l'espressione clinica può essere sfumata e può risultare particolarmente insidiosa (con comparsa di aritmie saltuarie, astenia o adinamia).

Anche in questo caso l'esame da eseguire è il TSH, seguito, se soppresso, dalla determinazione di FT4 ed, eventualmente, di FT3. La scintigrafia trova indicazione soprattutto in caso di patologia nodulare associata o nel sospetto di una tireotossicosi secondaria a patologia flogistica. Anche nei pazienti affetti da tireotossicosi, la positività della ricerca degli autoanticorpi può rivelarne una patogenesi autoimmune ma la positività della ricerca degli autoanticorpi anti recettore per il TSH è un dato molto più specifico in favore della eziopatogenesi autoimmune della tireotossicosi.

Gestione della terapia con antitiroidei nell'immediato e nel lungo termine

Il farmaco più usato è il metimazolo (Tapazole®), spesso somministrato a dosi elevate alla diagnosi e ridotte successivamente in base alla evoluzione clinica e laboratoristica. La determinazione del TSH è poco utile nei primi mesi di terapia, in quanto spesso soppresso per almeno 3-4 mesi, anche in presenza di terapia efficace o addirittura eccessiva e, di norma, l'indice più sensibile della attività tiroidea in questo periodo è l'FT4. Nei mesi successivi la determinazione del TSH, oltre al FT4, può essere in grado di dimo-

strare un sovradosaggio della terapia antitiroidea (livelli elevati di TSH anche in presenza di concentrazione degli ormoni tiroidei entro l'intervallo di riferimento). Le terapie protratte con antitiroidei richiedono la determinazione del TSH ed, al bisogno, di FT4. La conta leucocitaria per diagnosticare il raro (1/1000) evento di una agranulocitosi indotta dagli antitiroidei nei primi giorni di terapia va limitata ai casi di comparsa di sintomi clinici suggestivi.

Approccio alla sintomatologia dolorosa in sede tiroidea

La comparsa di sintomatologia dolorosa in sede tiroidea è ascrivibile a tireopatie flogistiche o alla espansione acuta di lesioni nodulari dovuta a colliquazione o emorragia intralesionale, che possono presentarsi acutamente in soggetti esenti da tireopatie, o sovrapporsi a tireopatie già identificate o addirittura in trattamento. Anche se la clinica può orientare verso una forma flogistica o una lisi follicolare, possono essere utili una ecografia, la determinazione del TSH e la determinazione di VES o PCR e, sicuramente, l'agoaspirato.

Tireopatie e farmaci

I farmaci possono causare tireopatie secondarie e numerose interferenze che rappresentano una importante complicazione della diagnostica tiroidea. A titolo esemplificativo sono riportate di seguito alcune delle più rilevanti contenute nel documento del PNLG:

1. Gli antagonisti dei recettori D₂ della dopamina (come metoclopramide, l-sulpiride, domperidone, fenotiazina) possono, soprattutto nelle fasi iniziali della terapia, indurre un aumento dei livelli del TSH senza causare ipotiroidismo.
2. I farmaci dopamino-agonisti (come levodopa e ergotderivati) possono ridurre i livelli del TSH senza che vi sia una condizione di tireotossicosi.
3. L'eparina calcica e sodica e le eparine frazionate sono in grado, a livelli terapeutici, di diminuire lievemente gli ormoni tiroidei totali e di aumentare gli ormoni liberi, senza avere un significato clinico, ma complicando la diagnosi.
4. I farmaci anticomiciziali, ed in particolare la difenilidantoina, abbassano i livelli di T4 totale ed aumentano la frazione libera, per un effetto combinato di spiazzamento dalle proteine plasmatiche e di aumento della clearance degli ormoni tiroidei, senza, comunque, indurre effetti clinici rilevanti.
5. Il furosemide in dosi elevate può spiazzare gli ormoni tiroidei dalle proteine plasmatiche, con aumento transitorio delle frazioni libere e riduzione dei livelli di ormoni tiroidei totali, ma senza effetti clinicamente rilevanti.
6. La somministrazione acuta di farmaci ad elevata affinità di legame con le proteine plasmatiche (come ASA, diclofenac, penicilline) può spiazzare l'ormone legato rendendone disponibili quote libere anche se le conseguenze cliniche sono rare.
7. L'aumento delle proteine vettrici indotte dai contraccettivi che aumentano la concentrazione degli ormoni tiroidei totali senza effetto sulla concentrazione degli ormoni liberi, è ben noto e rappresenta uno dei motivi principali della adozione degli ormoni liberi e dell'abbandono di quelli totali.
8. L'amiodarone aumenta frequentemente il TSH senza indurre una reale situazione di ipotiroidismo; molto più grave è invece l'ipertiroidismo che l'amiodarone può causare in alcuni casi.
9. Prodotti contenenti iodio possono produrre quadri sia di ipo- che di iper-funzione tiroidea anche gravi, soprattutto nei pazienti tireopatici.
10. L'interferone beta ha effetti rari e transitori sulla funzionalità tiroidea, mentre l'interferone alfa può indurre ipotiroidismo (8-29%) ed ipertiroidismo (1-5%) di lunga durata, soprattutto in presenza di anticorpi anti-TPO.
11. I glucocorticoidi riducono la secrezione di TSH e la dismissione di ormoni tiroidei con un effetto clinicamente rilevante nei pazienti affetti da malattia di Basedow.
12. Il litio blocca la dismissione di ormoni tiroidei ed induce sviluppo di gozzo ed ipotiroidismo.
13. Idrossido di alluminio, sucralfato, colestiramina e derivati della soia possono ridurre l'assorbimento della tiroxina somministrata a scopo terapeutico.

Le strategie per la diagnostica di laboratorio di base delle tireopatie sono almeno due; quella imperniata sul TSH, proposta da Klee venti anni fa e da allora impiegata alla Mayo Clinic¹⁹, e quella che prevede l'esecuzione di TSH ed FT4 che, anche recentemente, è stata riproposta dal documento della British Thyroid Association¹⁵. La strategia della Mayo Clinic "capitalizzava" il trend causato dalla disponibilità a partire dalla fine degli anni 80 di metodi di misura per il TSH sempre più soddisfacenti associati ai problemi che "piagavano" i metodi per la determinazione degli ormoni tiroidei totali e di quelli liberi che avevano fatto aumentare le richieste di TSH. Il concetto di fondo era quello di classificare come eutiroideo il soggetto con una concentrazione di TSH all'interno dell'intervallo di riferimento ed approfondire la valutazione con successivi esami solo in quei pazienti in cui il valore di TSH superava i limiti di riferimento. La BTA raccomanda cautela nei riguardi di questo approccio sostanzialmente in tutte le situazioni in cui l'asse ipofisi-tiroide non è intatto o è instabile. Queste condizioni non sono trascurabili e comprendono i pazienti in cui ipotiroidismo ed ipertiroidismo siano stati diagnosticati recentemente, la gravidanza, la diagnosi ed il trattamento dell'ipotiroidismo centrale, la resistenza agli ormoni tiroidei e l'adenoma ipofisario secernente il TSH. Pertanto, mentre l'approccio basato sul TSH è il più appropriato nei pazienti che sono già stati valutati, la BTA raccomanda negli altri casi l'esecuzione contemporanea di TSH ed FT4. Attenzione particolare viene dedicata alla valutazione della funzionalità tiroidea in gravidanza. Infatti nel corso della gravidanza aumentano le richieste di tiroxina da parte del feto (la quantità quotidiana di iodio richiesta è di circa 200 µg/die) e i cambiamenti del sistema immunitario predispongono all'insorgenza di patologie autoimmuni ed influenzano il decorso delle patologie tiroidee autoimmuni. Gli estrogeni prodotti in gravidanza possono aumentare la concentrazione degli ormoni tiroidei aumentando la concentrazione della TBG, mentre una leggera azione tireotropica dell'HCG abbassa la concentrazione del TSH nel primo trimestre. Gli ormoni tiroidei

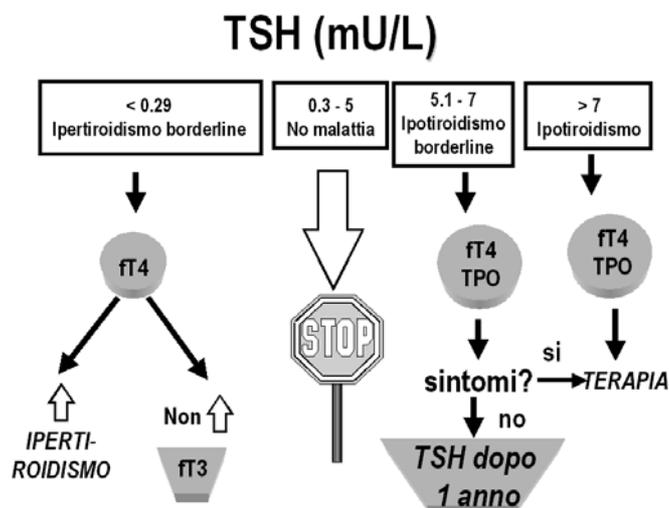


Figura 1. Esempio di algoritmo diagnostico TSH a cascata o riflesso.

liberi aumentano nel primo trimestre e diminuiscono in quelli successivi fino a scendere al di sotto degli intervalli di riferimento delle donne non in gravidanza; anche in questo caso la diversità dei risultati dei diversi metodi rende impossibile il confronto di metodi diversi. Intervalli di riferimento specifici per trimestre di gravidanza e metodo impiegato devono essere usati quindi sia per il TSH che per gli ormoni tiroidei liberi. L'attività della tiroide comincia intorno alla dodicesima settimana di gestazione e lo sviluppo neurologico del feto dipende quindi inizialmente dagli ormoni tiroidei materni. Il deficit di ormoni tiroidei può causare conseguenze molto serie (come aumento della abortività e deficit dell'IQ). TSH ed FT4 (non FT3) devono essere pertanto misurati nelle pazienti ipotiroidiche nel corso della gravidanza in ogni trimestre. Considerati i gravi danni che l'ipotiroidismo può causare nei primi mesi della gravidanza, i valori di FT4 devono essere conservati ai limiti superiori dell'intervallo di riferimento. La posologia della tiroxina nelle pazienti in terapia sostitutiva deve essere aumentata al momento della diagnosi di 25-50 µg/die per mantenere la concentrazione di TSH nei limiti. Dopo 2-4 settimane dal parto, il TSH deve essere controllato e, di solito, viene ripristinata la posologia seguita prima della gravidanza. Poiché i farmaci anti-tiroidei attraversano la placenta, le pazienti trattate debbono essere controllate in modo che la posologia sia la minore possibile sufficiente a mantenere l'eutiroidismo. In gravidanza, nel post-partum ed addirittura nelle donne tiroidectomizzate in terapia o trattate con iodio 131, vi possono anche essere recidive di un ipertiroidismo trattato e, in presenza di titoli elevati di anticorpi anti-recettore per il TSH, si può sviluppare una tireotossicosi nel feto e nel neonato. La tiroidite post-partum rappresenta una entità nosologica che interessa più del 5% delle donne nei primi sei mesi dopo il parto o un aborto e si presenta spesso con una fase transitoria tireotossica seguita da ipotiroidismo. La clinica è spesso modesta ed il laboratorio, ed in particolare gli anticorpi anti-TPO, possono essere molto utili. Comunque, la BTA raccomanda lo screening delle tireopatie in gravidanza solo in caso di: diabete di tipo 1, tireopatia in anamnesi personale o familiare o attuale, gozzo o sintomi di ipotiroidismo.

La risposta del laboratorio

La diagnostica di laboratorio delle malattie tiroidee dimostra come l'efficacia degli esami varia molto a seconda del contesto clinico in cui sono impiegati. Quando la prevalenza della malattia è bassa, un singolo esame di screening negativo, riduce talmente la probabilità di malattia da escludere in pratica la diagnosi. È importante, tuttavia, avere bene in mente qual è l'informazione che fornisce un risultato positivo. A questo riguardo l'EBLM e-Thesaurus della Società Italiana di Medicina di Laboratorio può essere molto utile¹⁸.

Anche se le tireopatie non diagnosticate comportano una rilevante morbosità, esse rispondono in genere bene ad una terapia tempestiva ed attenta ed il laboratorio offre al clinico ed al paziente degli esami sempre più affidabili e rapidi. Il pannello tradizionale in questo ambito è quello costituito da TSH, FT4, FT3, anticorpi anti-TPO e dagli anticorpi anti-Tg. Spesso distiroidismi severi, sintomatologie sfumate e situazioni di screening sono investigati in modo poco "appropriato", costoso e talvolta fuorviante con lo stesso pannello di esami.

Per correggere questo approccio, i laboratoristi e gli endocrinologi della Mayo Clinic (Rochester, Minn, USA), uno dei centri di eccellenza endocrinologica più importanti, hanno introdotto circa venti anni fa un nuovo modo di richiedere gli esami tiroidei denominato TSH "a cascata" o riflesso^{19,20}. Tale modalità è "appropriata" in particolare nella popolazione ambulatoriale, mentre non è raccomandata nei pazienti in trattamento sostitutivo e soppressivo e nei pazienti con ipotiroidismo centrale.

Il perno dell'algoritmo proposto è il TSH (Fig.1); il primo esame eseguito è, infatti, il TSH. Successivamente:

- 1) se la concentrazione del TSH rientra all'interno dell'intervallo di riferimento (IR), il soggetto viene classificato come eutiroideo e non sono eseguiti ulteriori esami;
- 2) se la concentrazione del TSH è inferiore al limite inferiore dell'IR, viene misurato nella stessa provetta e nella stessa seduta analitica l'FT4; se la concentrazione di questo risulta aumentata, la cascata si ferma ed il paziente viene classificato come ipertiroidico;
- 3) se invece la concentrazione dell'FT4 rientra all'interno dell'IR, viene misurato l'FT3;
- 4) se, infine, la concentrazione del TSH è superiore al limite inferiore dell'IR, sono misurati, nella stessa provetta e nella stessa seduta analitica, l'FT4 e/o gli anticorpi anti-TPO. Poiché la determinazione degli anticorpi anti-TPO è importante in fase diagnostica ma non nel follow-up, può essere raccomandabile in algoritmo diagnostico che li prevede ed uno, di monitoraggio, che non li prevede.

L'algoritmo è automatico: l'accesso del paziente è unico e il campione raccolto è sufficiente per l'esecuzione di tutti gli esami che sono necessari (e sufficienti) all'iter diagnostico. Il paziente o il Sistema Sanitario Nazionale pagherà solo la prestazione eseguita e necessaria per il caso specifico e i tempi di refertazione non subiranno ritardi.

Il TSH: il fulcro della regolazione della funzione tiroidea

Perché è più importante misurare il TSH piuttosto che gli ormoni tiroidei liberi e l'FT3 in particolare?

La fisiologia insegna che la tiroide produce, sotto il con-

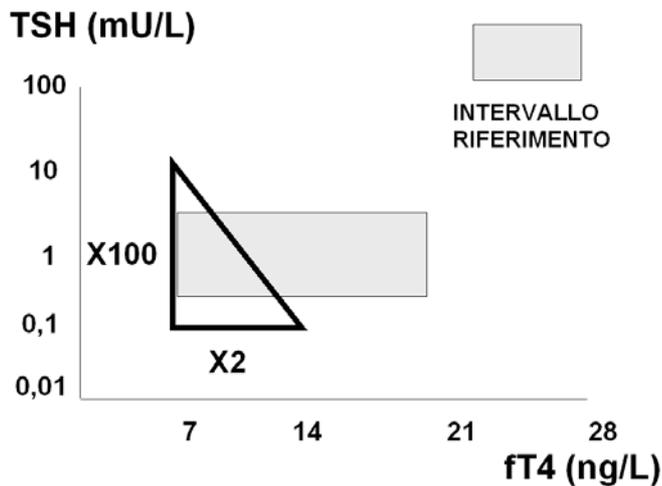


Figura 2. Correlazione log-lineare tra concentrazione di TSH e di FT4.

trollo del TSH, gli ormoni tiroidei che regolano, a loro volta, la sintesi di TSH con un meccanismo di feed-back che porta ad una associazione inversa della concentrazione di TSH e FT4. Di norma, si verifica che ad un aumento della concentrazione degli ormoni tiroidei circolanti è associata una concentrazione diminuita, o soppressa, del TSH. Anche se questa è la situazione più frequente, esistono tuttavia dei casi in cui la correlazione tra FT4 e TSH non è quella attesa e si può essere tentati ad attribuire il fenomeno ad errori analitici. Non si considerano due aspetti importanti:

La correlazione tra TSH e FT4 non è lineare; se l'FT4 si dimezza, il TSH non raddoppia ma aumenta di molte decine di volte (Fig. 2); il TSH risulta quindi l'indicatore più sensibile degli ipo- ed degli iper-tiroidismi lievi.

Il feed-back tra FT4 e TSH non scatta nel momento in cui il limite di riferimento viene superato, ma quando viene raggiunto un determinato set-point specifico per ogni soggetto per "l'insorgere" del feed-back del TSH. Nella Figura 3 è mostrato il comportamento del paziente A che ha come setpoint per l'FT4 una bassa concentrazione ed il paziente B che ha come setpoint per l'FT4 una concentrazione più alta. Se la concentrazione dell'FT4 di questo paziente comincia ad aumentare, la concentrazione del TSH comincia a calare (secondo la correlazione log-lineare sopra citata) al di sotto del limite inferiore di riferimento mentre l'FT4 rimane "normale" (*producendo il quadro dell'ipertiroidismo subclinico*). Se la concentrazione dell'FT4 del paziente B si abbassa, la concentrazione del TSH comincia a salire (secondo la relazione prima indicata) al di sopra del limite inferiore di riferimento mentre l'FT4 rimane "normale" (*producendo il quadro dell'ipotiroidismo subclinico*).

L'applicazione del TSH riflesso in ambito ospedaliero

Molti laboratori e molti ospedali hanno introdotto il TSH riflesso e l'Azienda Ospedaliera di Verona lo ha adottato in forma pilota nel settembre 2001 e ne ha esteso l'impiego nella primavera del 2004, dopo una capillare opera di presentazione e discussione con tutti i reparti dell'Ospedale Civile Maggiore. L'interazione con i reparti non è stata formale ma concreta ed approfondita tanto che, nell'au-

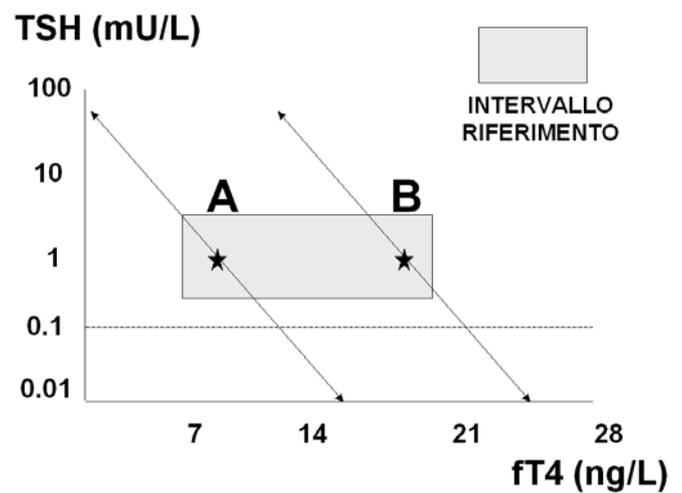


Figura 3. Esempi di regolazione della concentrazione di TSH in due pazienti con set-point di FT4 diversi (A e B) per l'insorgere del feed-back.

tunno del 2004, l'algoritmo inizialmente introdotto è stato modificato tenendo conto delle indicazioni dei clinici. Questo passaggio rappresenta un aspetto fondamentale in tutti i processi di adozione di linee guida in sanità: le linee guida più sofisticate, aggiornate e complete debbono essere collaudate nella specifica realtà che può presentare caratteristiche di popolazione, mix di casistica, peculiarità analitiche e logistiche assolutamente uniche di cui è indispensabile tenere conto²¹.

La Figura 4 mostra l'andamento delle richieste di esami tiroidei che il Laboratorio ha ricevuto nel corso del I trimestre degli anni 2003, 2004 e 2005 da parte delle Divisioni dell'Ospedale Civile Maggiore dell'Azienda di Verona. Il trend è evidente: nel 2004 le richieste di TSH sono state meno di un quarto rispetto a quelle del 2003 mentre quelle del TSH riflesso sono aumentate più di tre volte. Nello stesso periodo le richieste di FT4 si sono ridotte a circa un terzo e quelle di FT3 a circa un quarto. La tariffa riconosciuta oggi dal Nomenclatore Tariffario del Sistema Sanitario Nazionale sia per il TSH che per FT4 e FT3 è di 13,25 euro. Se, analogamente a quanto è stato ottenuto nei pazienti ricoverati, la percentuale di pazienti ambulatoriali in cui è eseguito l'FT3 passasse dal 60% al 15% di quelli in cui è stato misurato il TSH e se la percentuale di pazienti ambulatoriali in cui è eseguito l'FT4 passasse dal 70% al 26% si potrebbe stimare un "risparmio" per il SSN di circa 120.000 euro.

Sono dati che devono fare riflettere soprattutto considerando che una razionalizzazione di questo genere non compromette in nessun modo la qualità del servizio diagnostico erogato, è razionale ed appropriata dal punto di vista fisio-patologico, è in linea con i centri di eccellenza endocrinologica internazionali e non comporta alcun disagio per il paziente.

La qualità dei metodi del TSH è sufficiente?

Un recente editoriale di Weetman ci ricorda che le "fortune" del TSH hanno seguito l'andamento di molti farmaci ed esami di laboratorio; dopo una fase di entusiasmo incondizionato, ne sono stati evidenziati i limiti ed i problemi e, solo in una terza fase, l'esame o il farmaco hanno

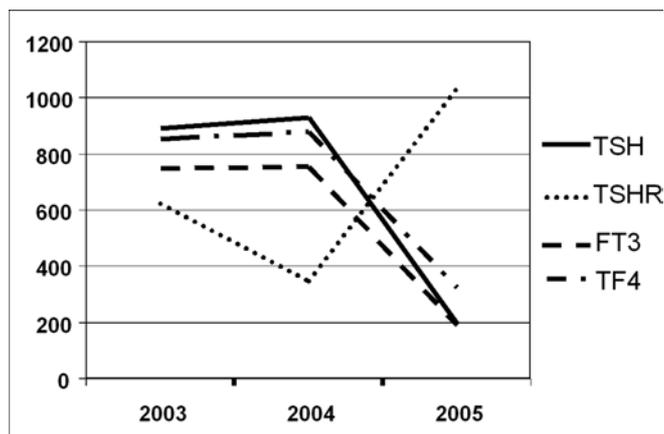


Figura 4. Numero di richieste di esami di funzionalità tiroidea per pazienti ricoverati nel primo trimestre degli anni 2003-2005 presso il Laboratorio analisi dell'OCM dell'Azienda Ospedaliera di Verona.

trovato il giusto ruolo²². Le considerazioni di Weetman si basano soprattutto su un articolo pubblicato sullo stesso fascicolo di *Annals of Clinical Biochemistry* che esamina i problemi relativi alla determinazione del TSH²³. 1. Numerose linee guida raccomandano che la sensibilità funzionale dei metodi per la determinazione del TSH sia inferiore a 0.02 mU/L in modo da consentire una determinazione accurata di una concentrazione di 0.1 mU/L. Anche se, verosimilmente, le prestazioni della maggior parte dei laboratori del Regno Unito sono adeguate, il problema non è mai stato affrontato in modo formale dai programmi di VEQ e i risultati dello studio di Rawlins e Roberts²⁴ sono stati contestati ma non smentiti^{25,26}. La sensibilità funzionale dei metodi per la determinazione del TSH secondo gli autori di Salt Lake City è risultata per Access < 0.02 mU/L, per Immulite 2000 di 0.014 mU/L, per Vitros di 0.004 mU/L, per Architect i2000 < 0.005 mU/L, per E170 di 0.011 mU/L e per Advia Centaur 0.039 mU/L. 2. Intervalli di riferimento. Ad aggiungere incertezza alla interpretazione dei risultati relativi agli esami di funzionalità tiroidea si aggiunge il vivace dibattito relativo agli intervalli di riferimento del TSH. A partire dalle linee guida dell'NACB²⁷ che raccomandavano di limitare i soggetti di riferimento a quelli che non presentavano anticorpi anti-TPO e risultavano negativi allo studio ultrasonografico, si è cominciato a proporre da parte di autori, associazioni e Società di abbassare il limite superiore dell'intervallo di riferimento a 2.5-3 mU/L. Sono a nostro avviso del tutto condivisibili le perplessità di Beckett e MacKenzie di fronte ad indicazioni di limiti fissi da applicare indipendentemente dal metodo usato. Come spiegarsi, per esempio, come il programma del NEQAS dimostra una sottostima dell'analizzatore Architect intorno al 20% rispetto alla media di consenso generale, anche se il limite superiore dell'intervallo di riferimento è di circa il 25% più alto rispetto a quello di Tosoh che non appare avere bias? Questo conferma la scarsa attenzione e la scarsa cura che i produttori rivolgono alla produzione o, almeno, alla verifica degli intervalli di riferimento. La Figura 5 mostra come, anche in Italia, si verifica una notevole dispersione di risultati e una importante incoerenza con gli intervalli di riferimento proposti dai produttori.

Nella nostra esperienza i metodi indiretti hanno dato

LIR	LSR	ditta	N	outlier	media	CV	min	max
		ROC	5	0	1.12	2.4	1.09	1.15
		MOD	59	0	1.11	3.8	0.99	1.22
0.34	3.8	AIA	42	0	1.07	8.2	0.91	1.31
0.27	4.2	ELC	61	0	1.06	5.4	0.89	1.17
		LSN	9	1	1.05	6.3	1	1.2
0.35	5.5	ACS	13	1	1.02	5.3	0.93	1.1
		VID	56	0	1.01	6	0.85	1.12
0.4	4	IMM2	80	4	0.99	5.9	0.86	1.15
0.35	5.5	CENT	63	3	0.97	9.7	0.82	1.24
0.49	4.67	AXS	78	0	0.92	15.7	0.67	1.23
0.5	3.5	ACC	68	1	0.92	6.3	0.78	1.09
0.3	3.05	VIT	8	0	0.91	3.8	0.86	0.95
		RDM	5	0	0.91	39	0.46	1.4
0.35	4.94	ARC	69	2	0.79	6.1	0.67	0.89
		CONS	646	7	1.02	12.9	0.67	1.37

Figura 5. Risultati di un programma di VEQ italiano relativo alle principali aziende che forniscono reagenti per TSH in Italia. LIR e LSR= Limite inferiore e superiore dell'intervallo di riferimento indicati dal produttore. (Da <http://eqas.ifc.cnr.it> (data di consultazione: 28.8.2007) e da Ref.23 modificati).

ottimi risultati²⁸⁻³⁰. Nel 2000 è stato calcolato l'intervallo del TSH su 40000 risultati raccolti presso il laboratorio dell'Ospedale di Vicenza e circa 26000 raccolti presso il laboratorio dell'Ospedale di Verona, impiegando lo stesso analizzatore (Centaur Siemens), e si sono ottenuti i seguenti limiti di riferimento: 0.28-3.5 e 0.22-3.6 mU/L³¹. Nel 2006 il limite superiore in una popolazione di 15359 femmine e 3862 maschi ottenuto con l'analizzatore Centaur è risultato di 3.7 mU/L³², molto simile a quello ottenuto in un gruppo di 870 donatori, con ecografia tiroide e anticorpi anti-TPO negativi (Elecsys, Roche)³³. Anche due studi multicentrici recenti, condotti rispettivamente nel Regno Unito ed in Spagna con l'analizzatore Centaur ed un vasto studio epidemiologico condotto negli Stati Uniti hanno portato a risultati comparabili³⁴⁻³⁶. A nostro avviso, una maggiore attenzione da parte dei laboratori a questo problema ridurrebbe sicuramente la confusione che regna in questo ambito. Ci sentiamo comunque di condividere il parere di un autorevole gruppo di endocrinologi europei che hanno esplicitamente sostenuto che la proposta di un abbassamento dell'intervallo di riferimento del TSH³⁷ non ha basi adeguate e porterebbe più danni che vantaggi con un rischio di aumento di sovratattamento con tiroxina³⁸. E' oramai inderogabile che le aziende collaborino tra di loro e con i professionisti del laboratorio per armonizzare maggiormente i risultati del TSH e contribuiscano a definire, con metodologie dirette ed indirette, degli intervalli di riferimento più corretti. I laboratori devono, a loro volta, rendersi conto che trasferire intervalli di riferimento uguali o simili a metodi diversi può portare a gravi misclassificazioni che hanno ricadute cliniche rilevanti. Un articolo spesso citato a questo riguardo è quello di Warren et al., pubblicato su un giornale autorevole come *Thyroid*, che ha proposto come cut-off per diagnosticare i pazienti diabetici destinati a sviluppare una tireopatia il valore di 1.5 mU/L di TSH³⁹. Questo studio è stato condotto con un metodo, che si può stimare sia impiegato nel nostro paese da un laboratorio su 100, che ha un bias negativo di almeno il 40% rispetto alla media per consenso degli altri metodi. I clinici devono considerare questi aspetti, o chie-

Tabella I. Conclusioni condivise per le principali condizioni di patologia tiroidea.

a. Screening della funzione tiroidea	<i>Richiedere: TSH Reflex diagnostico</i>
b. Iperplasia (gozzo) o nodulo (prima diagnosi)	<i>Richiedere: TSH Reflex diagnostico-ecografia</i>
c. Monitoraggio iperplasia (gozzo) o nodulo	<i>Richiedere: TSH Reflex monitoraggio-ecografia annuale</i>
d. Sospetto ipotiroidismo	<i>Richiedere: TSH Reflex diagnostico</i>
e. Monitoraggio terapia sostitutiva ipotiroidismo	<i>Richiedere: TSH Reflex monitoraggio (annuale) [aggiungere nei primi due mesi FT4]</i>
f. Sospetto ipertiroidismo	<i>Richiedere: TSH Reflex</i>
g. Monitoraggio terapia farmaci antitiroidei	<i>Richiedere: TSH Reflex monitoraggio (annuale) [nei primi 6-12 mesi misurare TSH ed FT4 ogni 1-2 mesi; dopo 6-12 mesi TSH Reflex]</i>

dere la consulenza dei colleghi del laboratorio, quando nella pratica clinica impiegano delle linee guida o delle raccomandazioni e devono tener sempre conto dell'eventuale bias del metodo usato dal laboratorio a cui invia i propri pazienti. E' evidente, quindi, che il referto del laboratorio relativo agli esami tiroidei (come del resto degli esami immunometrici) deve indicare sempre il metodo usato.

Tireoglobulina

Un altro ambito in cui la collaborazione tra laboratorio e clinica è indispensabile è quello della determinazione della tireoglobulina (Tg) che ha come unica applicazione il follow up dei pazienti tiroidectomizzati per carcinoma tiroideo differenziato. La Tg è dosabile nei soggetti sani e la sua concentrazione in circolo dipende dal volume di tessuto tiroideo differenziato presente, da eventuali infiammazioni o traumi del tessuto tiroideo e dalla stimolazione del recettore del TSH. La Tg non deve essere misurata né nello screening, né nella diagnosi differenziale delle tireopatie. La quantità e l'autorevolezza dei contributi recenti a questo riguardo dimostra l'attualità e la complessità del problema⁴⁰⁻⁴². L'interferenza degli anticorpi anti-Tg sui metodi di dosaggio rappresenta uno dei problemi fondamentali di questo tipo di diagnostica; infatti, in genere, aumentano le concentrazioni misurate con i metodi RIA e diminuiscono quelli ottenuti con metodi in chemiluminescenza. Quando

tutti i metodi commerciali sia per Tg che per anticorpi anti-Tg sono stati esaminati e confrontati nel dettaglio, è stato dimostrato come il problema è, praticamente, insolubile. Esaminando con attenzione le Tabelle che corredano il lavoro di Spencer et al. si rileva come solo nel 10% dei 42 campioni studiati tutti i metodi misurano gli anticorpi anti-Tg e tutti i metodi automatici in chemiluminescenza presentano concentrazioni indosabili di Tg in molti campioni positivi per anticorpi anti-Tg suggerendo la presenza di interferenza mentre tutti i metodi RIA forniscono dei risultati meno influenzati dalla presenza di anticorpi anti-Tg⁴⁰.

Nel 2007 è stato pubblicato lo studio relativo al confronto di metodi di Tg provenienti da Kryptor, Immulite, Advantage, Dynotest, Access ed e-Iason⁴¹. Usando il cut off di 0.9 µg/L la sensibilità andava dal 19 al 78% e la specificità dal 63 al 97%. Del tutto discordanti i dati ottenuti da Iervasi et al.⁴² che confermano le preoccupazioni ed i caveat espressi da Spencer⁴³ e Stockigt⁴⁴.

L'opportunità di una stretta collaborazione tra clinico e laboratorista, da programmare nel dettaglio, per il corretto uso degli strumenti diagnostici di laboratorio invocata sei anni fa su queste pagine da Orunesu et al.⁴⁵ rimane di grande attualità e deve pertanto continuare ad essere perseguita. Le Tabelle I e II contengono i punti principali di condivisione che, ad oggi, il clinico ed il laboratorista dell'Ospedale Civile Maggiore dell'Azienda Ospedaliera di Verona hanno raggiunto e che propongono alla valutazione dei colleghi.

Tabella II. "Decalogo" per la gestione delle principali condizioni di patologia tiroidea.

1. L'esame più importante è la Tirotropina (TSH).
2. Il TSH riflesso rappresenta l'opzione più adatta alla maggior parte dei casi.
3. Raramente vi è indicazione per misurare nello screening il TSH più di una volta l'anno.
4. Molto raramente vi è indicazione per misurare l'FT3.
5. Gli Anticorpi anti-TPO sono da preferire agli anticorpi anti-Tg.
6. Non misurare gli anticorpi anti-TPO più di una volta l'anno.
7. Richiedere gli anticorpi anti-Tg solo nel follow-up del cancro della tiroide.
8. Il Paziente in terapia sostitutiva con Levo-Tiroxina non deve assumere il farmaco nelle otto ore precedenti il prelievo.
9. Nei primi mesi di terapia con farmaci antitiroidei l'esame più utile è l'FT4.
10. Medico richiedente e laboratorio devono essere disponibili a discutere i risultati degli esami di funzionalità tiroidea che presentano particolari complessità interpretative (patologia ipotalamo-ipofisaria, resistenza agli ormoni tiroidei, gravidanza, terapia con amiodarone).

Bibliografia

1. S. Morbelli, E. Orunesu, G. Pesce, M. Bagnasco. La diagnostica di laboratorio delle disfunzioni tiroidee. RIMeL 2006; 2:90-6.
2. Cooper DS. Clinical practice. Subclinical hypothyroidism. N Engl J Med 2001; 345:260-5.
3. Toft AD. Clinical practice. Subclinical hyperthyroidism. N Engl J Med 2001; 345:512-6.
4. Dayan CM. Interpretation of thyroid function tests. Lancet 2001; 357:619-24.
5. O'Reilly DS. Thyroid function tests-time for a reassessment. BMJ 2000; 320:1332-4.
6. Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, Nicoloff JT, Solomon DH. American Thyroid Association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. JAMA 1990; 263:1529-32.
7. 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.
8. Singer PA, Cooper DS, Levy EG, Ladenson PW, Braverman

- LE, Daniels G, et al. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. Standards of Care Committee, American Thyroid Association. *JAMA* 1995; 273:808-12.
9. AACE. Medical Guidelines For Clinical Practice for the evaluation and treatment of Hyperthyroidism And Hypothyroidism. *Endocr Pract* 2002; 8:457-69.
 10. AACE/AME Task Force on Thyroid Nodules Medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocr Pract* 2006; 12:63-102.
 11. <http://www.pnlg.it/LG/008tiroide/tiroide.php>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 12. <http://progettooncologia.cnr.it/strategici/tiroide/01-ti.html>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 13. <http://www.aafp.org/online/en/home/clinical/exam/p-t.html>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 14. <http://www.ahrq.gov/clinic/uspstf/uspsthyr.htm>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 15. Association for Clinical Biochemistry, British Thyroid Foundation. UK Guidelines for the use of thyroid function tests. <http://acb.org.uk/docs/tftguidelinefinal.pdf>; <http://www.btf-thyroid.org/>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 16. Regional Thyroid Cancer Group Northern Cancer Network Guidelines for management of Thyroid Cancer Clinical Oncology 2000; 12:373-91.
 17. British Thyroid Association/Royal College of Physicians. Guidelines for management of thyroid cancer draft thya23.12.06afterexternarreviewers.doc <http://www.btf-thyroid.org/>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 18. EBLM e-Thesaurus. <http://81.92.44.74/simelprontuario/>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 19. Belin RM, Ladenson PW, Robinson KA, Powe NR Development and use of evidence based clinical practice guidelines for thyroid disease *Endocrinol Metab Clin N Am* 2002; 31: 795-817.
 20. Klee GG, Hay ID. Assessment of sensitive thyrotropin assays for an expanded role in thyroid function testing: proposed criteria for analytic performance and clinical utility. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:461-71.
 21. Castello R, Celebrano M, Dorizzi RM. La diagnostica tiroidea: il TSH riflesso. *Dialogo sui farmaci* 2006; 9:84-6.
 22. Weetman AP. Thyroid-stimulating hormone assays: guidelines, guidance and clinical judgement. *Ann Clin Biochem* 2007; 44:201-2.
 23. Beckett G, MacKenzie F. Thyroid guidelines - are thyroid-stimulating hormone assays fit for purpose?
 24. Rawlins ML, Roberts WL. Performance characteristics of six third-generation assays for thyroid-stimulating hormone. *Clin Chem* 2004; 50:2338-44.
 25. Waskiewicz D, Burkhardt A, Emancipator K. Performance Characteristics of 6 Third-Generation Assays for Thyroid-Stimulating Hormone. *Clin Chem* 2005; 51:1904-5.
 26. Roberts WL. Performance Characteristics of 6 Third-Generation Assays for Thyroid-Stimulating Hormone. *Clin Chem* 2005; 51:1905.
 27. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, et al. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid* 2003; 13:3-126. <http://www.aacc.org/AACC/members/nacb/LMPG/OnlineGuide/PublishedGuidelines/ThyroidDisease/ThyroidDiseasePDF.htm>. (data di consultazione: 28.8.2007).
 28. Kouri T, Kairisto V, Virtanen A, Uusipaikka E, Rajamaki A, Finneman H, et al. Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. *Clin Chem* 1994; 40:2209-15.
 29. Ferrè-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Ane R. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clin Chim Acta* 1997; 279:97-105.
 30. Dorizzi RM, Schinella M, Pupillo A, Endrizzi L. Hematological health-related intervals estimated using an indirect method in order to satisfy the accreditation standards. *Accred Qual Assur* 2000; 5:367-70.
 31. Giavarina D, Dorizzi RM, Guerra G. Linee guida per la produzione di intervalli di riferimento. *Riv Med Lab* 2001; 2:99-105.
 32. Giavarina D, Dorizzi RM, Soffiati G. Indirect Methods for Reference Intervals Based on Current Data. *Clin Chem* 2006; 52:335-7.
 33. Kratzsch J, Fiedler GM, Leichtle A, Brügel M, Buchbinder S, Otto L, et al. New reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones based on National Academy of Clinical Biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid. *Clin Chem* 2005; 51:1480-6.
 34. Ferrè-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Gomà-Llongueras M, Alumà-Trullàs A, Aramendi-Ramos M, Castaño-Vidriales JL, et al. Regional reference values for some quantities measured with the Advia Centaur analyser: a model of co-operation between the in vitro diagnostic industry and clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39:166-9.
 35. Andrew CE, Hanning I, McBain AM, Moody D, Price A. A model for a multicentre approach to the derivation of reference intervals for thyroid hormones and testosterone for laboratories using identical analysers. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:1013-9.
 36. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:489-99.
 37. Wartofsky L, Dickey RA. The evidence for a narrower thyrotropin reference range is compelling. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5483-8.
 38. Brabant G, Beck-Peccoz P, Jarzab B, Laurberg P, Orgiazzi J, Szabolcs I, et al. Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur J Endocrinol* 2006; 154:633-7.
 39. Warren RE, Perros P, Nyirenda MJ, Frier BM. Serum thyrotropin is a better predictor of future thyroid dysfunction than thyroid autoantibody status in biochemically euthyroid patients with diabetes: implications for screening. *Thyroid* 2004; 14:853-7.
 40. Spencer CA, Bergoglio LM, Kazarosyan M, Fatemi S, LoPresti JS. Clinical impact of thyroglobulin (Tg) and Tg autoantibody method differences on the management of patients with differentiated thyroid carcinomas *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5566-75.
 41. Schlumberger M, Hitzel A, Toubert ME, Corone C, Troalen F, Schlageter MH, et al. Comparison of seven serum thyroglobulin assays in the follow-up of papillary and follicular thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2487-95.
 42. Iervasi A, Iervasi G, Ferdeghini M, Solieo C, Bottoni A, Ross L. Clinical relevance of highly sensitive Tg assay in monitoring patients treated for differentiated thyroid cancer. *Clin Endocrinol* 2007; 67:434-41.
 43. Spencer CA. Challenges of Serum Thyroglobulin (Tg) Measurement in the presence of Tg autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3702-4.
 44. Stockigt JR. Ambiguous Thyroglobulin assay results in the follow-up of differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5904-5.
 45. Orunesu E, Morbelli S, Pesce G, Bagnasco M. Linee guida per la diagnosi ed il monitoraggio delle tireopatie. *Riv Med Lab - JLM* 2001; 2 (S1):36-42.