

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
“SALVADOR ZUBIRÁN”

**UTILIDAD CLÍNICA Y PERFIL DE SECRECIÓN TEMPORAL DE
LA TSH DURANTE LA PRUEBA DE ESTIMULACIÓN CON TRH,
EN PACIENTES CON DIVERSAS ENFERMEDADES DEL EJE
TIROIDEO**

TESIS QUE PRESENTA:
DR. RUY DAVID ARJONA VILICAÑA

PARA OBTENER EL DIPLOMA
DE LA ESPECIALIDAD EN:
ENDOCRINOLOGÍA

ASESOR: DR BERNARDO PÉREZ ENRÍQUEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez
Jefe del departamento de enseñanza del INCMNSZ

Dr. Juan Antonio Rull Rodrigo
Profesor titular de Endocrinología.
Subdirector médico del INMCNSZ.

Dr. Bernardo Pérez Enríquez
Asesor de tesis.
Coordinador de la clínica de tiroides del INMCNSZ.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por todo.

AL DR. BERNARDO PÉREZ ENRÍQUEZ

Por su valiosa crítica y aportación al desarrollo de este trabajo.

A MIS PADRES Y HERMANOS

Por ayudarme a crecer y madurar.

A GRACIELA

Por estar conmigo en las buenas y en las malas.

A SAÚL

El nuevo motorcito de mi vida.

AL H. SÍNODO.

ÍNDICE

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	2
JUSTIFICACIÓN	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	11
METODOLOGÍA	13
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	31

INTRODUCCIÓN

El eje hipotálamo-hipófisis-tiroides es un sistema hormonal finamente regulado, cuya función principal es mantener una adecuada función de la glándula tiroides y su secreción. El estudio de las diferentes patologías que involucran este eje es complicado debido a que se depende en gran parte de valores netos de hormonas totales o libres por métodos que pudieren ser influenciados por diversas variables, entre las que se cuentan la presencia o no de alteraciones en la concentración de las proteínas transportadoras, anticuerpos contra las diferentes hormonas que involucran este eje, alteraciones en la afinidad de las hormonas hacia diferentes proteínas que forman un papel secundario en condiciones normales, la presencia o no de fármacos que alteran la actividad del eje tiroideo o la cinética de las hormonas tiroideas, el estado clínico del paciente, e incluso, las variaciones en la secreción por el momento del día o la estación del año.

Por esta razón a principios de la década de los setentas se sintetizó por primera vez la protirelina (TRH sintética) cuya utilidad principal ha sido como adyuvante en el diagnóstico de diferentes patologías del eje tiroideo. Sin embargo, en los últimos años, como consecuencia de la mejoría en la sensibilidad de los diferentes métodos de laboratorio para la medición de hormonas del eje tiroideo, se ha demeritado el uso de esta prueba, además de que existe poca disponibilidad de la TRH sintética para la realización de la misma. Es por esto que en países como México y en general, en Latinoamérica, existen pocos datos referentes a la eficacia, y utilidad de la prueba de TRH, así como las particularidades que pueden observarse en nuestra población.

En el presente trabajo se pretende caracterizar la respuesta normal de la TSH a la estimulación con TRH en pacientes con y sin patología tiroidea, así como precisar aquellos datos que sean más útiles para su interpretación.

ANTECEDENTES

El eje hipotálamo-hipófisis-tiroides es un sistema hormonal finamente regulado. Su objetivo principal es mantener una adecuada función de la glándula tiroides y de su secreción. La hormona que regula la función del tiroides es la tirotropina (TSH), producida en los tirotropos de la hipófisis anterior. Esta es una glucoproteína compuesta de dos subunidades: α y β , codificadas por diferentes genes. La subunidad α es común para la TSH, para la hormona luteinizante (LH) y para la folículo estimulante (FSH). Por otro lado, la subunidad β es única para la TSH. La vida media de esta hormona es de 30 a 50 minutos y su tasa de secreción es de 40 a 150 mU/día, aunque esta tasa puede aumentar hasta 15 veces en individuos hipotiroideos.

La secreción de la TSH depende del equilibrio entre impulsos estimulantes e inhibitorios, los primeros son producidos sobretodo por la hormona liberadora de tirotropina (TRH) y los segundos son dados por las hormonas tiroideas mismas, aunque se han descrito otros péptidos y hormonas que tienen relación con este sistema regulatorio, entre las que se encuentran la neurotensina, el factor de crecimiento epidérmico, la interleucina 1β , la leptina, el péptido liberador de gastrina, la neumoedina B, la sustancia P, entre otros (1).

Fisiología de la TRH

La TRH es producida como un preprohormona, la cual codifica para 6 copias de TRH (2). La molécula de TRH madura es un tripéptido (piroGlu-His-Pro-NH₂) que resulta de la escisión de aminoácidos básicos que rodean al tripéptido por las proconvertasas, PC1 y PC2, y la carboxipeptidasa E (3). Las neuronas productoras de

TRH se encuentran en el núcleo paraventricular del hipotálamo y descansan en cada lado del tercer ventrículo donde reciben estímulos de la circulación, así como de otras regiones del hipotálamo y el tallo cerebral. Desde ahí proyectan sus axones hacia la eminencia media, donde se secreta la molécula de TRH madura, directamente hacia la circulación portal, difundiendo hacia la adenohipófisis donde se pone en contacto con sus receptores en los tirotropos. Los receptores de TRH se encuentran en la membrana plasmática de los tirotropos y pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Se han identificado 2 receptores de TRH, TRH-R1 y TRH-R2, de los cuales sólo el primero se ha clonado en humanos (4,5).

Las hormonas tiroideas regulan la expresión génica y la producción de la TRH por medio de retroalimentación negativa, de manera tal que cuando las concentraciones de hormonas tiroideas son bajas, la expresión de TRH es alta y viceversa. A pesar de que la TRH se expresa en otras regiones del hipotálamo como en el núcleo ventromedial y lateral, sólo se regula estrechamente por las hormonas tiroideas en el núcleo paraventricular (6). Ahí actúa la triiodotironina (T3) proveniente de la tiroxina (T4) por la acción de la monodesyodasa tipo 2 en los tanicitos, un tipo único de células gliales que rodea el tercer ventrículo. Una vez que la T3 alcanza el núcleo paraventricular, debe ser transportada al interior de la neurona productora de TRH por el transportador de monocarboxilatos 8 (MCT8). Después de que T3 acceda la neurona productora de TRH, la regulación ocurre en dos niveles: en el gen mismo a través del receptor de hormona tiroidea TR β 2 (7) y a nivel postraduccional.

La vida media plasmática de la TRH es de aproximadamente 2 a 6 minutos, en estados de hipertiroidismo o hipotiroidismo respectivamente y es degradada por la enzima piroglutamil aminopeptidasa que es altamente específica para la TRH y cuya actividad en la hipófisis anterior se estimula por las hormonas tiroideas (8).

Aunque la función principal y más identificada de la TRH es estimular la secreción de la TSH, la TRH es un potente factor de liberación hormonal que influye en otros ejes. Esta involucrado en la regulación de la secreción de la prolactina, efecto que puede comprobarse al detectarse una elevación de la prolactina después de la administración intravenosa de TRH. Asimismo, la TRH aumenta la liberación de GH en: acromegalia, uremia, enfermedad hepática, anorexia nervosa, depresión psicótica y en niños con hipotiroidismo, así como de ACTH en algunos pacientes con enfermedad de Cushing (9).

A su vez, debido a que se encuentra en una zona en donde se regula gran parte de las respuestas vitales para la supervivencia del ser humano, las neuronas productoras de TRH se encuentran influenciadas por neuronas involucradas en el control de la temperatura, el apetito, el ciclo sueño-vigilia y la respuesta a estrés. La secreción de TSH muestra pequeños picos cada 90 a 180 minutos probablemente por estimulación de la TRH. La liberación hipotalámica de TRH se eleva rápidamente 30 a 45 minutos después de la exposición al frío en ratas, y la expresión del RNAm se incrementa una hora después de la exposición (10). Esto puede deberse a la cercanía de las fibras adrenérgicas y noradrenérgicas de las terminaciones nerviosas de las neuronas productoras de TRH en la eminencia media, aunque también se ha observado que estas fibras hacen contacto con las neuronas productoras de TRH en el núcleo paraventricular. El estrés físico y el ayuno prolongado inhiben la secreción de TSH. Esto parece deberse en parte a la acción que ejercen los glucocorticoides en el gen de TRH, ya que en las neuronas productoras se han encontrado receptores de glucocorticoides (11).

Uso clínico de la TRH: la prueba de estimulación con TRH.

El primer estudio acerca de los efectos fisiológicos, farmacológicos y toxicológicos por la administración de TRH en humanos, se llevó a cabo en 18 voluntarios sanos, así como 3 pacientes con panhipopituitarismo y 3 con tratamiento crónico con levotiroxina por hipotiroidismo primario. En este estudio en el que además se ensayaron dosis entre 250 y 750 μg de TRH se establecieron las diferentes respuestas de la TSH en pacientes normales en comparación con aquellos que ingerían hormonas tiroideas o bien tenían patología hipofisiaria, en quienes la respuesta se encontró abolida o disminuida (12). Posteriormente Haigler y colaboradores ensayaron varias dosis de TRH en sujetos sanos, encontrando que la respuesta en la elevación de la TSH es dosis dependiente hasta los 500 μg , ya que después de esta cantidad, existía una meseta o incluso un decremento en la respuesta. Por otro lado, las dosis menores a 125 μg eran significativamente más bajas y por lo tanto, no recomendables (13).

A pesar de que ya se conocía la dosis adecuadas para la prueba, el tiempo esperado para obtener una respuesta (dentro de los primeros 45 minutos) y algunas respuestas patológica a la prueba, no fue sino hasta que Snyder y Utiger comenzaron a utilizar la diferencia entre la basal de TSH y el pico máximo (a lo cual se le llama delta), cuando se empezaron a establecer puntos de corte para definir respuestas normales. En este trabajo, los autores determinaron que las mujeres tenían una delta ligeramente mayor que los hombres y que además, ésta delta era más pronunciada en pacientes jóvenes (14). Posteriormente, publicaron criterios basados en la delta y establecieron la respuesta normal en mujeres y hombres menores de 40 años como una delta ≥ 6 , en hombres entre 40 y 79 años, una delta ≥ 2 y un tiempo máximo para la delta de ≤ 45 minutos después de la aplicación de la TRH (15). Sin embargo, estos criterios no permitían discriminar a todos los pacientes con patologías hipofisiarias o hipotalámicas, en parte debido a que no tomaron en cuenta la curva de respuesta después del pico.

Debido a que precisamente la mayor utilidad de la prueba de estimulación con TRH era discriminar entre un hipotiroidismo central y otras patologías, Faglia y colaboradores centraron sus estudios en la respuesta de pacientes con patologías hipofisarias o hipotalámicas. Ellos observaron, en los controles normales que utilizaron, que la respuesta a la estimulación con TRH era mayor en mujeres, el pico era habitualmente a los 20 minutos y que el decremento de la TSH plasmática a los 60 minutos después del pico era del 41% al 80% del incremento neto. Estos autores fueron los primeros en utilizar una respuesta prolongada como criterio para definir una respuesta anormal (16). Aunque los criterios propuestos por Faglia y colaboradores han sido los más aceptados para valorar la respuesta a un paciente, es de notar, que tuvieron gran variabilidad de respuestas en sus pacientes con patologías centrales, las cuales no pudieron catalogar debido a que no tenían un estándar de oro.

Otro punto discutido en la interpretación de la prueba ha sido acerca de si el mejor criterio para definir una respuesta máxima es la respuesta pico, la delta o el número de veces de elevación del pico sobre la basal. Sawin y Hershman establecieron en un estudio en 22 sujetos normales que no había ventaja en utilizar la delta en comparación con la respuesta pico, y de hecho, establecieron como una respuesta pico aquella mayor a 5 $\mu\text{U/ml}$ como normal (17). Por su parte, Faglia y colaboradores sugerían un incremento neto $>6 \mu\text{U/ml}$ en mujeres para definir una respuesta normal. Spencer y colaboradores propusieron que el número de veces que se incrementaba la TSH por encima del basal, discriminaba mejor entre una respuesta normal y la respuesta en diferentes patologías, ya sea hipertiroidismo e hipotiroidismo ($r=0.83$). Sin embargo, esta propuesta tuvo el inconveniente de la gran variabilidad en la respuesta, pues el rango de elevación fue desde 2.8 a 22.9 con una media de 8.6 veces elevada la TSH por encima del basal, valores que en ocasiones se sobreponían con los de pacientes con

hipotiroidismo primario (rango de 1-11.3) (17). Dada la discrepancia en los puntos de corte para considerar una respuesta normal, algunos grupos han tomado sus propios puntos de corte, dependiendo de la respuesta obtenida en individuos normales de su propia población (18, 19).

Además de estos inconvenientes en la interpretación, la respuesta a la prueba de estimulación con TRH puede modificarse por varios factores. Para empezar tiene una importante variación intrínseca, Sawin y Hershman establecieron que el coeficiente de variación de la prueba va del 17 hasta el 63% (20). Puede variar también con el momento del día en que se realiza la prueba. Weeke demostró una mayor respuesta a la estimulación con TRH en la noche, en comparación con el día, sin embargo, esto se relacionó a la existencia de un aumento en la concentración de TSH por la noche (21). La realización de la prueba en días consecutivos, se relacionó a una disminución en la respuesta (13). Finalmente, algunos fármacos pueden modificar la respuesta de la TSH durante la prueba. En efecto, los glucocorticoides producen inhibición en la respuesta, los estrógenos en hombres, aumentan la respuesta a la estimulación con TRH, sin embargo, este efecto no se observa en las mujeres.

La administración de TRH no está libre de efectos adversos aunque en general, estos son leves y transitorios. Clásicamente cuando se presentan pocos segundos después de la aplicación de la TRH e incluyen náusea, malestar, enrojecimiento facial y el deseo de orinar en el 40-70% de los sujetos y ocasionalmente fatiga excesiva que dura 1 a 2 horas y que comienza 6 a 8 horas después de la inyección. Un estudio reciente reportó los siguientes efectos adversos con sus respectivas frecuencias en los pacientes estudiados: náusea 59.1%, deseos de orinar 54.5%, cefalea 13.6%, mareo 9.1% y síntomas inespecíficos como debilidad y parestesias 4.1% (22).

Utilidad actual de la prueba de TRH

Desde la aparición de las pruebas de mayor sensibilidad para detectar pequeñas concentraciones de TSH y de T4 libre, se realiza con menos frecuencia la prueba de estimulación con TRH. Aunado a esto, en nuestro medio, existe poco acceso a la TRH sintética necesaria para la realización de la prueba. Algunos grupos han utilizado la prueba de TRH para discriminar pacientes con hipotiroidismo subclínico con valores de TSH limítrofes entre 2 y 3.5 mIU/L (18, 23). Moncayo y colaboradores determinaron que hasta un 7.7% de pacientes que serían catalogados como eutiroideos por tener una TSH <2.5 mIU/L, en realidad tienen una respuesta exagerada compatible con hipotiroidismo subclínico con la estimulación mediante TRH (18). Sin embargo, la prueba es aún vigente para el propósito que fue diseñada, el diagnóstico de hipotiroidismo central. En un estudio de mujeres con síndrome de Sheehan se demostró que hasta un 13.8% de las pacientes que hubieran sido clasificadas como eutiroideas por los niveles de T4 libre, tendrían en realidad hipotiroidismo central al realizarles una prueba de estimulación con TSH (19). Por lo tanto, aunque es cierto que las nuevas tecnologías en la medición de hormonas ayudan en el proceso diagnóstico que realiza el clínico, la prueba de estimulación con TRH tiene todavía un papel en el diagnóstico diferencial.

JUSTIFICACIÓN

El eje hipotálamo-hipófisis-tiroides es susceptible, como todos los sistemas hormonales, a falla en cualquiera de los tres órganos que lo componen. De esta manera, se pueden detectar hipertiroidismo de origen hipofisario o tiroideo así como hipotiroidismo de origen tiroideo, hipofisario o hipotalámico, nombrados como primario, secundario o terciario, respectivamente.

Desde la disponibilidad de la TRH sintética, hace más de 40 años, se ha empleado este péptido para el diagnóstico diferencial de esas patologías. Sin embargo, desde que aparecieron nuevas generaciones de inmunoensayos para medir TSH, el uso de la prueba de estimulación con TRH ha disminuido, por considerarla más laboriosa y cara en comparación con la medición de TSH y T4 libre.

Existen un grupo de pacientes que incluso con las nuevas técnicas de medición son diagnosticados erróneamente, por lo que algunos grupos han comenzado a utilizar nuevamente a la prueba de estimulación con TRH. En Latinoamérica existen pocos estudios que exploren la utilidad clínica, así como los valores esperados en nuestra población de pacientes eutiroideos y en diversos trastornos del eje tiroideo.

El presente estudio pretende valorar la utilidad clínica que ha tenido la prueba de estimulación con TRH para tomar decisiones terapéuticas y las diferentes respuestas en diferentes poblaciones de pacientes.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico de los padecimientos del eje tiroideo representa, a menudo, un reto para el clínico y una preocupación para el paciente. Aunque existen cuadros característicos, no es raro que haya situaciones clínicas que permitan una dualidad en la interpretación. Para discernir entre los múltiples diagnósticos diferenciales inherentes al eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, es necesario tener pruebas confiables y de bajo costo que sean de utilidad práctica. La prueba de TRH es una prueba que ha sido utilizada con frecuencia en el pasado, pero que recientemente ha perdido popularidad ante el avance tecnológico en la medición de las diversas hormonas tiroideas. Existen además pocos datos acerca de las pruebas características de las diferentes patologías del eje tiroideo en población latinoamericana. Por lo tanto, nos proponemos estudiar ¿cual es la utilidad clínica que tiene la prueba de estimulación con TRH para el diagnóstico y la toma de decisión en el tratamiento de hipotiroidismo primario, secundario o terciario, así como de hipertiroidismo primario o secundario, en pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”?

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la utilidad clínica que tiene la prueba de estimulación con TRH para el diagnóstico y la toma de decisión en el tratamiento de hipotiroidismo primario, secundario o terciario, así como de hipertiroidismo primario o secundario, en pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, investigados acerca de estas patologías entre los 1994 y 2008.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer las características clínico-epidemiológicas de los pacientes sometidos a la prueba de estimulación con TRH.
2. Identificar el perfil de respuesta de la TSH después de la estimulación con TRH, en los individuos eutiroideos y con distintas enfermedades de origen tiroideo, hipofisiario o hipotalámico.
3. Correlacionar la TSH basal, con el índice de tiroxina libre, la delta, el número de veces de elevación sobre la basal y el valor pico
4. Determinar sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo, tomando como estándar de oro el diagnóstico final de acuerdo a evolución de los pacientes.
5. Establecer diferencias entre las distintas curvas producidas en las diferentes patologías.

6. Establecer el parámetro que mejor discrimina la respuesta de la TSH (delta, valor pico, número de veces por encima del basal).

HIPÓTESIS ALTERNA

La prueba de estimulación con TRH es de utilidad para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades tiroideas o hipotálamo-hipofisarias.

HIPÓTESIS NULA

La prueba de estimulación con TRH no es de utilidad para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades tiroideas o hipotálamo-hipofisarias.

METODOLOGÍA

Diseño del estudio: Se realizó un estudio observacional, longitudinal, retrolectivo y descriptivo.

Métodos: Se revisaron los expedientes de los pacientes a quienes se les realizó una prueba de estimulación con TRH, a las 8:00 AM, en la Unidad Metabólica Ambulatoria del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ) entre los años 1994 y 2008. Para esto se utilizó el censo de pruebas metabólicas registradas en este departamento. Dado que todas las pruebas dinámicas realizadas en el instituto se realizan en este departamento, pudimos obtener datos acerca del 100% de las pruebas de estimulación con TRH realizadas en nuestro hospital.

En todos los casos la prueba de estimulación con TRH se realizó de la siguiente manera: previo ayuno por 12 horas del paciente, se canalizó y se mantuvo la vía venosa permeable mediante goteo lento de una solución salina al 0.9%. Se tomó una muestra de sangre para perfil tiroideo y muestras basales y justo antes de la aplicación de la TRH sintética (TRH PREM Novartis Consumer Health S.A.). Se administró una dosis estándar de 200 µg de TRH sintética en bolo y se tomaron muestras para la medición de TSH a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después.

Para la medición de TSH en las muestras se utilizaron ensayos de inmunoradiometría (IRMA) de 1994 a 2005 (de 1994 a 2003 Clynical assays TM Gamma Coat ® hTSH sensibilidad 0.013 µUI/ml; de 2003 a 2004 Turbo TSH [125I] sensibilidad 0.03 µUI/ml; RIA-gnost ® hTSH sensibilidad 0.03 µUI/ml) y de 2005 a la fecha se utiliza un ensayo inmunoenzimático de dos posiciones (Access HYPERSensitive hTSH®) con sensibilidad de 0.01 µUI/ml, con rango de medición de 0.0-100 µUI/ml. La captación de triyodotironina (CT3) se realizó con el método de carbón

dextrán. La T3 total y tiroxina total (T4) se cuantificaron empleando ensayos inmunoenzimáticos de unión competitiva.

El índice de tiroxina libre se calculó mediante la fórmula $(CT3)(T4T)/\text{media del rango de CT3}$; esto antes de 2005 equivalió a dividir entre uno y desde el 2005 a la actualidad entre 0.4. El rango de normalidad antes de 2005 iba de 77-193 y desde el 2005 de 77-180. Cuando se midió directamente la presencia de T4 libre, se consignó este valor preferentemente sobre el índice de tiroxina libre.

Criterios de inclusión:

1. Prueba de estimulación con TRH en las que se haya medido TSH para diagnóstico de patologías del eje tiroideo.
2. Que el paciente tenga expediente abierto en el Instituto Nacional de Ciencia Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Criterios de exclusión:

1. Realización de prueba de estimulación con TRH dentro de protocolo de Refetoff para diagnóstico de resistencia a hormonas tiroideas.
2. Que no se encuentre la prueba de estimulación con TRH en el expediente.
3. Pacientes en quienes no se haya concluido la prueba de TRH.
4. Pacientes en los que se desconozca el diagnóstico final de acuerdo a evolución de la prueba de TRH.

Definición operacional de variables

Las respuestas a la prueba se definieron de acuerdo a los criterios de Faglia y colaboradores (16) de la siguiente manera:

Respuesta normal: Una delta o incremento neto de 6 a 30 $\mu\text{U/ml}$ sobre la TSH basal en las mujeres, o de 3.5-15 $\mu\text{U/ml}$ en los hombres dentro de los primeros 45 minutos después de la aplicación de la TRH.

Respuesta abolida o ausente: Un delta menor a 1 $\mu\text{U/ml}$ sobre la basal.

Respuesta disminuida: Un delta mayor a 1 pero menor a 6 $\mu\text{U/ml}$ sobre la basal en mujeres, y mayor a 1 pero menor a 3.5 $\mu\text{U/ml}$ en hombres.

Respuesta exagerada: Un delta mayor a 30 $\mu\text{U/ml}$ sobre la basal en mujeres y mayor a 15 $\mu\text{U/ml}$ en hombres.

Respuesta retrasada: Que el valor pico sea a los 60 minutos o después, de la aplicación de TRH.

Respuesta prolongada: Que 60 minutos después del pico, el valor de la TSH sea mayor al 40% del pico.

Paciente eutiroideo: Aquel que tiene una T4 libre o ITL normal antes de la prueba, y que en la evolución no requirió uso de hormonas tiroideas o fármacos antitiroideos.

Paciente con hipertiroidismo primario: Aquel que tiene una TSH basal suprimida y que respondió a tratamiento con fármacos antitiroideos, ^{131}I o cirugía.

Paciente con hipertiroidismo secundario: Aquel que tiene un tumor productor de TSH, que remitió después de tratamiento dirigido.

Paciente con hipotiroidismo primario: Aquel paciente con una TSH basal mayor a 4.5 $\mu\text{U/ml}$ y que mejoró con tratamiento a base de hormonas tiroideas.

Paciente con hipotiroidismo secundario: Aquel con deficiencia o no de otras hormonas hipofisarias, con ITL <77 y que tenga datos clínicos de hipotiroidismo que mejoraron con tratamiento a base de hormonas tiroideas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la captura y el análisis de los datos se utilizó el programa SPSS versión 11.0. Las variables continuas se expresaron como media y desviación estándar, excepto cuando se señaló mediana y rango. Para definir significancia estadística de la asociación entre variables se utilizó X^2 o prueba exacta de Fisher para variables cualitativas nominales y ordinales, considerando los valores esperados en las tablas de contingencia. Las medias de los distintos grupos de patologías, así como los distintos tiempos de las curvas de TSH se analizaron mediante ANOVA. Las correlaciones entre variables con distribución normal se analizaron mediante correlación de Pearson y las de distribución sesgada mediante correlación de Spearman. Para la correlación entre la TSH y el número de veces de elevación sobre la basal se utilizó transformación logarítmica.

RESULTADOS

De Enero de 1994 a Junio de 2008, se encontraron 81 pacientes con registro en el Instituto, a quienes se les realizó por lo menos una prueba de TRH. De estos 81 pacientes, en un caso no se encontró la prueba en el expediente; en otro paciente no se pudo conseguir el expediente; tres pruebas de TRH fueron para medir la respuesta de GH en el abordaje diagnóstico de acromegalia; una prueba fue para medir la respuesta de la prolactina; en dos casos, que incluyeron varias pruebas de TRH, se encontraron dentro del protocolo de Refetoff para diagnóstico de resistencia a hormonas tiroideas, en un caso la prueba no se concluyó debido a que la paciente presentó una hipoglucemia sintomática y por último, en 20 pacientes se desconoce el diagnóstico final, por lo que no se tomaron en cuenta para el análisis.

De entre los 52 pacientes restantes, a quienes se les realizó una prueba de TRH para diagnóstico de patologías del eje tiroideo, 37 fueron mujeres (71.2%) y 15 fueron hombres (28.8%). El promedio de edad de los pacientes a quienes se les realizó la prueba fue de 40.62 años (± 15.25) con un rango de 15 a 71 años. La mayoría de los pacientes no tenían otra comorbilidad (63%) y entre los que sí las presentaban, las comorbilidades más frecuentes fueron: diabetes mellitus tipo 2 (n=8) e hipertensión arterial sistémica (n=5). La mayor parte de los pacientes se estudiaron por sospecha de hipotiroidismo central (n=32, 61.53%); la segunda sospecha diagnóstica más frecuente fue el hipertiroidismo subclínico (n=17, 32.7%); el índice de tiroxina libre se encontraba normal antes de la prueba en el 57.7% de los casos (n=30) y bajo en el 34.6% (n=18). Sólo a 2 pacientes se les realizó medición de T4 libre antes de la prueba, y en otros 2 casos se solicitó T4 libre el día de la prueba. A 25 pacientes (48.1%) se les realizó la prueba de TRH con sólo una determinación de pruebas de función tiroidea, registrada en

el expediente, esto no incluye aquellas mediciones que se pudieron haber realizado antes de ingresar al Instituto. Se determinaron anticuerpos antitiroideos en el 53.84% de los casos (n=28).

Las pruebas se distribuyeron de acuerdo a los criterios de Faglia de la siguiente manera: 13 pacientes tuvieron una respuesta abolida (25%), 9 una respuesta normal (17.3%), 13 una respuesta disminuida (25%), 4 una respuesta exagerada (7.7%), 3 una respuesta retrasada (5.8%) y 10 una respuesta prolongada (19.2%).

Con respecto al diagnóstico que tuvieron de acuerdo a la evolución de su padecimiento, 14 pacientes (26.4%) requirieron tratamiento con buena respuesta para hipertiroidismo, 19 pacientes (36.53%) no requirieron tratamiento y se comportaron como pacientes eutiroideos, 9 pacientes tuvieron hipotiroidismo central (16.9%), 5 pacientes (9.4%) tuvieron hipotiroidismo primario, dos pacientes tuvieron disfunción tiroidea del enfermo en estado crítico, dos pacientes ingerían hormonas tiroideas y un paciente tuvo un tirotropinoma. La evolución de los pacientes desde el diagnóstico de sospecha hasta el desenlace final, se presenta en la tabla número 1.

Se pudo caracterizar a nuestra población de paciente eutiroideos (n=19), los cuales presentaron el siguiente comportamiento: la TSH basal promedio fue de 1.57 $\mu\text{U/ml}$ (rango 0.42-3.20), todos presentaron un pico dentro de los primeros 60 minutos; sólo uno de los 19 pacientes tuvo el pico a los 45 minutos, el resto (n=18) tuvieron un pico dentro de los primeros 30 minutos. El valor pico promedio fue de 12.18 $\mu\text{U/ml}$ (rango 3.40-29). Por su parte, el delta promedio fue de 10.52 $\mu\text{U/ml}$ (rango 2.96-25.8) y el número de veces de elevación sobre la basal fue en promedio de 8.24 (rango 3.47-16.66) (tabla 2). De acuerdo a los criterios de Faglia, 4 de estos pacientes hubieran tenido una respuesta disminuida, y 6 más hubieran sido catalogados con una respuesta prolongada, de manera que menos de la mitad de los pacientes cuya conducta clínica fue

de un paciente eutiroides, tuvieron una respuesta típicamente normal. Aunque el valor pico y la delta fueron mayores en las mujeres que en los hombres, esto no alcanzó significancia estadística.

Sospecha clínica	Tipo de respuesta esperada	Tipo de respuesta obtenida	Diagnóstico de acuerdo a comportamiento clínico
Hipotiroidismo central N= 32	Abolida o disminuida Retrasada Prolongada	Abolida o disminuida = 9 Retrasada= 3 Prolongada= 10 Normal= 8 Exagerada= 2	Hipotiroidismo central= 9 Normal= 15 Hipotiroidismo primario= 3 Enfermo en estado crítico= 2 Ingesta exógena de hormonas tiroideas= 2 Hipertiroidismo= 1
Hipertiroidismo N= 18	Abolida Disminuida	Abolida= 11 Disminuida= 6 Normal= 1	Hipertiroidismo= 13 Tirotropinoma= 1 Normal = 4
Otros= 2 (Un paciente con sospecha de hipotiroidismo primario y otro con sospecha de resistencia a hormonas tiroideas).	Exagerada Prolongada	Exagerada= 2	Hipotiroidismo primario= 2

Tabla 1. Asociación entre la sospecha clínica de los pacientes, la respuesta obtenida en la prueba de TRH y su diagnóstico de acuerdo al comportamiento clínico.

Grupo	No. de sujetos	Edad mediana (rango)	Razón H/M	TSH basal media (\pm DE)	TSH pico media (\pm DE)	Delta media (\pm DE)	No. de veces media (\pm DE)	ITL media (\pm DE)
Eutiroideo	19	38 (18-70 años)	4/15	1.57 (\pm 0.84)	12.18 (\pm 7.06)	10.52 (\pm 6.44)	8.24 (\pm 3.35)	108.52 (\pm 35.01)
Hipertiroideo	14	43.07 (\pm 16.08)	3/11	0.13 (\pm 0.17)	0.86 (\pm 1.04)	0.73 (\pm 0.93)	24.68 (\pm 73.58)	126.1 (\pm 52.15)
Hipotiroideo central	9	34.89 (\pm 14.91)	4/5	2.55 (\pm 2.83)	8.59 (\pm 7.66)	6.03 (\pm 5.63)	4.51 (\pm 2.66)	54.96 (\pm 23.73)
Hipotiroideo primario	5	48 (\pm 19.39)	2/3	7.25 (\pm 3.12)	62.96 (\pm 67.12)	55.71 (\pm 65.86)	8.60 (\pm 6.43)	62.34 (\pm 36.17)
Disfunción del enfermo crítico	2	42 (\pm 1.41)	1/1	2.51 (\pm 1.68)	6.15 (\pm 1.90)	3.64 (\pm 0.22)	2.82 (\pm 1.13)	64.42 (\pm 8.99)
Ingesta exógena de H. tiroideas	2	48.5 (\pm 9.19)	0/2	0.56 (\pm 0.76)	2.43 (\pm 3.35)	1.87 (\pm 2.58)	3.68 (\pm 0.96)	52.42 (\pm 12.98)
Hipertiroideo central	1	55	1/0	4.35	5.0	0.65	1.14	168.98
Significancia				<0.001	<0.001	<0.01	.894	<0.001

Tabla 2. Distribución de diferentes variables por subgrupos de diagnóstico de acuerdo a su diagnóstico final.

Por su parte, los pacientes con hipertiroidismo tuvieron este problema mayormente por enfermedad de Graves (n=5), seguido por bocio multinodular tóxico (n=4), tiroiditis (n=3) y nódulo autónomo (n=2). En 11 pacientes (78.6%) el

tratamiento definitivo fue con ^{131}I , 2 pacientes cursaron con una tiroiditis que no requirió tratamiento y un paciente pudo controlarse con tiamazol, el cual posteriormente fue retirado sin recurrencia de la enfermedad. No todos los pacientes tuvieron una respuesta abolida, ya que 4 pacientes tuvieron delta $>1 \mu\text{U/ml}$ (28.5%), aunque tres de estos pacientes tuvieron una TSH basal mayor a $0.2 \mu\text{U/ml}$. El único paciente con tirotropoma tuvo una conducta similar en su curva, con una respuesta abolida. El valor pico de los pacientes con enfermedad de Graves ($0.23 \pm 0.32 \mu\text{U/ml}$) fue menor que cuando el hipertiroidismo fue por otra causa ($1.21 \pm 1.16 \mu\text{U/ml}$), lo mismo se observó con el delta ($0.16 \pm 0.21 \mu\text{U/ml}$ vs $1.04 \pm 1.04 \mu\text{U/ml}$); estas diferencias se encontraron estadísticamente significativas ($p < 0.0001$ y < 0.001 respectivamente).

Los pacientes con hipotiroidismo central se acompañaron en 6 de los 9 casos de otros déficits hormonales: 4 de estos pacientes tenían hipogonadismo hipogonadotrófico, en un paciente se documentó hipogonadismo más déficit de GH y en otro se documentó déficit de GH solo, además del hipotiroidismo. El pico de TSH se presentó de manera retrasada en sólo 2 pacientes, y en los restantes, se encontró ya sea una respuesta disminuida ($n=3$), abolida ($n=1$) o prolongada ($n=3$). Las 2 etiologías más frecuentes de hipotiroidismo central fueron: macroadenoma hipofisario y silla turca vacía ($n=2$ cada uno); el resto de los casos fueron secundarios a aracnoidocele, craneofaringioma, hipofisitis, daño hipotalámico ($n=1$) y en un paciente no se determinó una causa específica.

Tomando como patrón de oro, el diagnóstico final que tuvieron los pacientes durante el seguimiento, pudo calcularse, la sensibilidad (96.96%), especificidad (47.36%), valor predictivo positivo (76.19%) y valor predictivo negativo (90%), (razón de verosimilitud positiva 1:1.81; razón de verosimilitud negativa 1:0.08) tomándose como verdadero positivo aquel con alguna patología tiroidea o hipofisaria y que

hubiera tenido una respuesta anormal esperada para su patología, y como verdadero negativo, a aquel paciente que tuvo una respuesta normal, y que posteriormente evolucionó como un paciente eutiroideo (tabla 3). Sin embargo, esta sensibilidad y especificidad es diferente dependiendo del tipo de la patología tiroidea que se evalúa, ya que cuando se evalúa al hipertiroidismo, la respuesta abolida o disminuida a la estimulación con TRH produce una sensibilidad del 100%, una especificidad del 72.9%, con una precisión diagnóstica del 80.7%. Por su parte la prueba es mucho menos confiable cuando se evalúa al hipotiroidismo central, ya que esta produce una sensibilidad del 88.8%, una especificidad de 58.1% y una precisión diagnóstica de 63.4%.

	Enfermos	No enfermos	Totales
Prueba +	32	10	42
Prueba -	1	9	10
Totales	33	19	52

Tabla 3. Evaluación diagnóstica general de la prueba de estimulación con TRH en nuestra población.

En el análisis univariado se demostró que las curvas promedio de cada una de las categorías eran diferentes entre si. Por otro lado, en general no se encontró una adecuada correlación entre el nivel de TSH y el número de veces de elevación sobre la basal ($r= 0.085$, $p= 0.035$) ya que algunos pacientes con TSH basal baja, tuvieron elevaciones normales o incluso mayores de las esperadas (figura 1). En cambio si se encontró correlación positiva estadísticamente significativa entre la TSH basal y el valor pico de TSH ($r=0.508$, $p<0.0001$), así como con su delta ($r= 0.347$, $p<0.0001$) (figura 2).

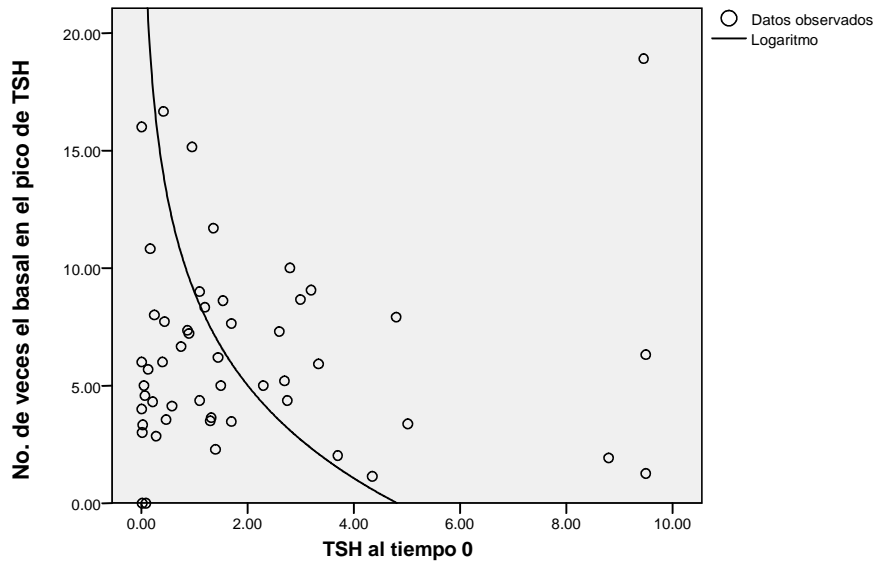
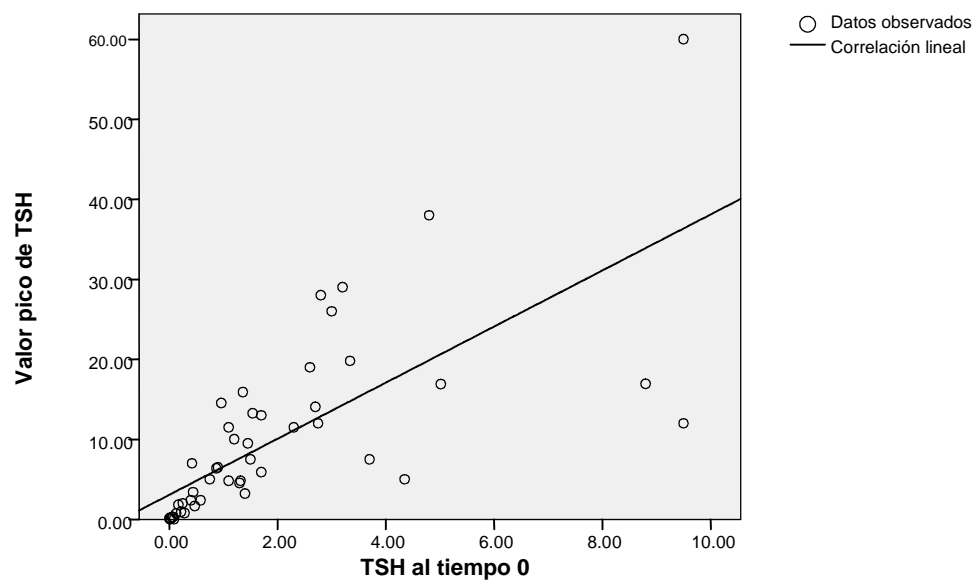


Figura 1. Correlación entre la TSH basal y el número de veces de elevación de la TSH en el pico mediante distribución logarítmica, con respecto a la basal

A)



B)

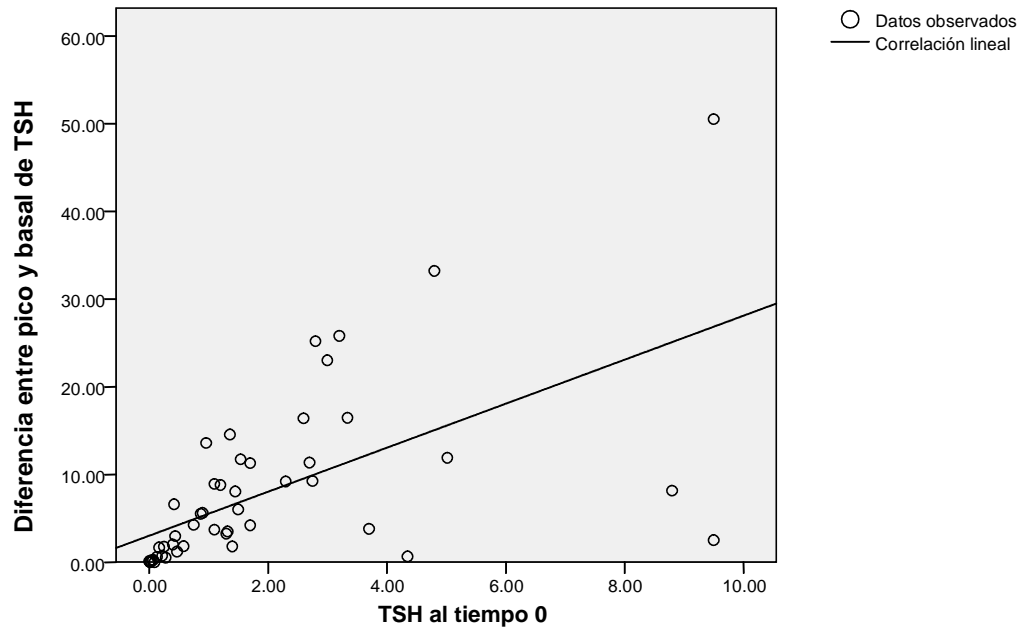


Figura 2. Correlación positiva entre la TSH basal y el valor pico (a) y la delta (b) en los 52 pacientes analizados con diversas patologías tiroideas.

DISCUSIÓN

Este es el primer reporte que se tiene acerca de la respuesta de TSH bajo estimulación con TRH en pacientes mexicanos, con diversas patologías tiroideas.

En este trabajo pudimos caracterizar la respuesta normal de individuos en nuestra población, y es evidente que de hecho la mitad de las respuestas en estos individuos normales no se ajustan a los criterios emitidos por Faglia y colaboradores en 1973 (16), lo cual puede esperarse si se toma en cuenta que los ensayos para medir TSH han cambiado mucho, aumentando en su sensibilidad, a lo largo de varios años. Sin embargo, esto ya había sido registrado con los ensayos modernos para TSH por Spencer y colaboradores quienes demostraron en un grupo escogido sin enfermedad tiroidea, que la delta en estos pacientes iba en un rango de 1.2 a 43.7 $\mu\text{U/ml}$ (17), y aunque estos autores no especifican que porcentaje de sujetos normales tuvieron una respuesta abolida, si refleja la posibilidad de tenerla. Rodríguez-Dare y colaboradores también estudiaron la respuesta en pacientes normales latinoamericanos (provenientes de Brasil). En estos sujetos el rango del valor pico fue de 3.4 a 20 $\mu\text{U/ml}$ (22), lo cual se aproxima mucho a nuestros resultados, en una población semejante. Aunque en promedio, la respuesta era menor en hombres que en mujeres (situación que dio motivo para que Faglia y colaboradores propusieran criterios diferentes de normalidad por género), todos los hombres cumplieron el criterio de un delta $\geq 3 \mu\text{U/ml}$, no así las mujeres, ya que en 3 pacientes hubo un delta $<6 \mu\text{U/ml}$, y una paciente incluso tuvo un delta $<3 \mu\text{U/ml}$ (16). En nuestro estudio no encontramos diferencia respecto al delta y al valor pico por género, por lo que probablemente no se debería discernir por el género para tomarse un punto de corte.

En concordancia con estudios previos, el grupo que tuvo mayor variabilidad en la respuesta a la prueba de estimulación con TRH, fue el grupo con hipotiroidismo central. Tres de nuestros pacientes tuvieron un pico mayor a $16 \mu\text{U/ml}$ y el único criterio que coincidió para hipotiroidismo central en estos pacientes con un pico considerado normal, fue la respuesta prolongada, sin embargo, similar a los encontrado por Atmaca y colaboradores, la respuesta pico y delta y el número de veces sobre la basal fue en promedio significativamente menor que en los pacientes normales (19). A diferencia de lo encontrado por Faglia y colaboradores, los pacientes con hipotiroidismo central tuvieron una respuesta disminuida con mayor frecuencia que los pacientes eutiroideos, algo compatible con su enfermedad de base (16). Por otro lado, también es notable que los pacientes con hipotiroidismo central tuvieron un índice de tiroxina libre menor que los pacientes con hipotiroidismo primario; esto puede explicarse porque la mayor parte de los pacientes evaluados con hipotiroidismo primario, tenían niveles de TSH en rangos de hipotiroidismo subclínico, en cambio, los pacientes con hipotiroidismo central probablemente pasaron mucho tiempo sin el diagnóstico de hipotiroidismo. La TSH basal fue significativamente mayor en los pacientes con hipotiroidismo central en comparación con los pacientes eutiroideos, situación previamente reportada por Patel y Burger (24), aunque posteriormente refutada por Snyder y colaboradores (15).

Los pacientes hipertiroideos tuvieron una TSH basal, un pico y un delta menor que los pacientes que ingirieron de manera exógena hormonas tiroideas, lo cual demuestra que la producción endógena de hormonas tiroideas, suprime el eje tiroideo de manera más intensa que la ingesta exógena. Incluso dentro de las causas de hipertiroidismo endógeno, la

enfermedad de Graves produjo una supresión mayor de la TSH en comparación con las otras causas, situación observada por Spencer y colaboradores, pero en relación a la ingesta exógena de T4, aunque no en relación a otras causas de hipertiroidismo (17). A este propósito puede tener mucho que ver el mecanismo fisiopatológico de supresión de la TSH en la enfermedad tiroidea autoinmune, ya que se ha reportado que el receptor de TSH se encuentra expresado en las células foliculoestelares de la glándula pituitaria anterior, y la secreción de TSH puede ser regulada hacia abajo a través del receptor por un efecto de retroalimentación paracrina (25). Esto se ha acompañado de la demostración de niveles más bajos de TSH en relación con la presencia de anticuerpos inhibitorios del receptor de TSH, independientemente del nivel de T4 total (26) y estudios epidemiológicos que ligan supresión de TSH con persistencia de anticuerpos circulantes contra el receptor de TSH (27). Debido a la concentración basal tan baja de TSH en pacientes con hipertiroidismo, los pequeños incrementos de TSH pueden significar elevaciones grandes con respecto al número de veces del valor basal. Es por esto que hubo una elevación mucho mayor en comparación con los otros grupos de estudio. En pacientes con respuesta abolida por hipertiroidismo, es probable que la elevación de veces sobre la basal, no aporte ningún beneficio diagnóstico y en cambio, propicie a confusión respecto a la interpretación de la prueba. Sin embargo, eliminar a los pacientes con hipertiroidismo, no mejoró la correlación entre la TSH basal y el número de elevaciones sobre la basal.

En nuestro estudio, a diferencia del estudio de Spencer y colaboradores (17), el valor pico y la delta tuvieron una mejor correlación con la TSH basal y fue de mayor utilidad para definir una respuesta normal de una alterada, ya que hubo una importante sobreposición entre los valores de la elevación sobre la basal en los distintos grupos de

estudio, siendo mayor la confusión entre los grupos de hipotiroidismo primario y los pacientes eutiroides.

Por último, existen pocos datos acerca de la sensibilidad y especificidad de la prueba de TRH, esto se debe en parte a que conforme fueron progresando los ensayos de TSH, la prueba de TRH se convirtió en patrón de oro para evaluar sensibilidad y especificidad de ensayos de TSH (26). Por otro lado, distintos autores han estandarizado la prueba de TRH en su población, ajustando la mejor sensibilidad y especificidad para su población de acuerdo al valor pico o el delta (18,19). Burger y Patel señalaron que en pacientes con tirotoxicosis, es importante un resultado positivo que confirma la enfermedad, mientras que un resultado negativo brinda un apoyo diagnóstico más limitado. Por otro lado, una respuesta exagerada en el hipotiroidismo, ayuda a descartar una lesión hipotalámica o hipofisiaria como causa del hipotiroidismo (24). Así en este estudio, coincidimos en que la prueba es más bien sensible que específica (de acuerdo a los criterios de Faglia), y que en caso de hipertiroidismo incluso tiene una sensibilidad del 100% y una buena precisión diagnóstica. Por otro lado es cierto que en aquellos pacientes en quienes se realizó una prueba de TRH por sospecha de hipotiroidismo central y que tuvieron una respuesta exagerada, posteriormente pudo corroborarse la presencia de hipotiroidismo primario.

Por otro lado, comprendemos que este trabajo tiene varias limitaciones propias de su diseño. Dado que carecemos de métodos exactos para medición de hormonas libres, los inmunoensayos tienen varias limitaciones propias de su metodología, además de que no en todos los casos se solicitaron hormonas libres, por lo que se tomó como patrón de oro el

desenlace en la evolución de su padecimiento tuvieron los pacientes. Entendemos que pudo haber situaciones clínicas transitorias que pudieron haber ocasionado respuestas anormales características de estas situaciones pero que en la evolución se tomaron como falsas positivas, como es el caso de las tiroiditis en el hipertiroidismo, o la disfunción tiroidea del enfermo crítico en el hipotiroidismo. Además existe un número no despreciable de pacientes a quienes se les realizó la prueba de TRH por una sospecha clínica de los cuales desconocemos su evolución. Serían de utilidad estudios prospectivos en los cuales se corroboren los hallazgos documentados en esta revisión.

CONCLUSIONES

1. La prueba de estimulación con TRH se realizó en mujeres de mediana edad en quienes se sospechó o intentó descartar hipotiroidismo central.
2. Los pacientes que tuvieron una evolución como pacientes eutiroideos presentaron una TSH basal promedio fue de 1.57 $\mu\text{U/ml}$ (rango 0.42-3.20), con pico dentro de los primeros 30 minutos, con un valor pico promedio de 12.18 $\mu\text{U/ml}$ (rango 3.40-29) y un delta promedio fue de 10.52 $\mu\text{U/ml}$ (rango 2.96-25.8).
3. El valor de TSH basal se correlacionó bien con el índice de tiroxina libre, el valor pico y el delta, pero no hubo buena correlación con el número de veces de elevación sobre la basal.
4. La prueba de estimulación con TRH, de acuerdo a los criterios de Faglia, tuvo una sensibilidad del 96.96%, una especificidad de 47.36%, un valor predictivo positivo 76.19% y un valor predictivo negativo 90%; sin embargo, existe una mejor efectividad diagnóstica cuando el diagnóstico que intenta descartarse es hipertiroidismo.
5. Las curvas de las 7 categorías diagnósticas investigadas en este trabajo son diferentes entre sí.
6. En este estudio, el valor pico y el delta tuvieron mayor utilidad para evaluar las diferentes patologías en comparación con el número de elevaciones sobre la basal.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Pazos-Moura CC, Ortiga-Carvalho TM, Gaspar de Moura E.** The autocrine/paracrine regulation of thyrotropin secretion. *Thyroid*. 2003;13:167-175.
2. **Yamada M, Radovick S, et al.** Cloning and structure of human genomic DNA and hypothalamic cDNA encoding human prepro thyrotropin-releasing hormone. *Molecular Endocrinology*. 1990;4:551-556.
3. **Schaner P, Todd RB, et al.** Processing of prothyrotropin-releasing hormone by the family of prohormone convertases. 1997;272:19958-19968.
4. **Duthie SM, Taylor PL, et al.** Cloning and functional characterization of the human TRH receptor. *Mol Cell Endocrinol*. 1993;95:R11-R15.
5. **Matre V, Karlsen HE, et al.** Molecular cloning of a functional human thyrotropin-releasing hormone receptor. *Bioch Biophys Res Commun*. 1993;195:179-185.
6. **Dyess EM, Segerson TP, et al.** Triiodothyronine exerts direct cell-specific regulation of thyrotropin-releasing hormone gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology*. 1988;123:2291-2297.
7. **Abel ED, Ahima RS, et al.** Critical role for thyroid hormone receptor beta2 in the regulation of paraventricular thyrotropin-releasing hormone neurons. *J Clin Invest*. 2001;107:1017-1023.
8. **Schomburg L, Bauer K.** Thyroid hormones rapidly and stringently regulate the messenger RNA levels of the thyrotropin-releasing hormone (TRH) receptor and the TRH-degrading ectoenzyme. *Endocrinology*. 1995;136:3480-5.

9. **Jackson IM.** Thyrotropin-releasing hormone. *N Engl J Med.* 1982;306:145-155.
10. **Sanchez E, Uribe RM, et al.** Differential responses of thyrotropin-releasing hormone (TRH) neurons to cold exposure or suckling indicate functional heterogeneity of the TRH system in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroendocrinol.* 2001;74:407-22.
11. **Lee SL, Stewart K, Goodman RH.** Structure of the gene encoding rat thyrotropin releasing hormone. *J Biol Chem.* 1988;263:16604-16609.
12. **Feischer N, Burgus R, et al.** Preliminary observations on the effect of synthetic thyrotropin releasing factor on plasma thyrotropin levels in man. *J Clin Endocr.* 1970;31:109-112.
13. **Haigler ED, Pittman JA, et al.** Direct evaluation of pituitary thyrotropin reserve utilizing synthetic thyrotropin releasing hormone. *J Clin Endocr.* 1971;33:573-581.
14. **Snyder PJ, Utiger RD.** Response to thyrotropin releasing hormone (TRH) in normal man. *J Clin Endocr.* 1972;34:380-5.
15. **Snyder PJ, Jacobs LS, et al.** Diagnostic value of thyrotrophin-releasing hormone in pituitary and hypothalamic disease. *Ann Intern Med.* 1974;81:751-757.
16. **Faglia G, Beck-Peccoz P.** Plasma thyrotropin response to thyrotropin-releasing hormone in patients with pituitary and hypothalamic disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973;37:595-601.
17. **Spencer CA, Swarzein D, et al.** Thyrotropin (TSH)-releasing hormone stimulation test responses employing third and fourth generation TSH assays. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:494-498.

18. **Moncayo H, Dapunt O, Moncayo R.** Diagnostic accuracy of basal TSH determinations based on the intravenous TRH stimulation test: An evaluation of 2570 tests and comparison with the literature. *BMC endocrine disorders.* 2007;7:5.
19. **Atmaca H, Tanriverdi F, et al.** Do we still need the TRH stimulation test?. *Thyroid.* 2007;17:529-533.
20. **Sawin CT, Hershman JM.** The TSH response to thyrotropin-releasing hormone (TRH) in young adult men: intraindividual variation and relation to basal serum TSH and thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 1976;42:809-816.
21. **Weeke J.** The influence of the circadian thyrotropin rhythm on the thyrotropin response to thyrotropin-releasing hormone in normal subjects. *Scand J Clin Lab Invest.* 1974;33:17-24.
22. **Rodriguez-Dare GL, De-Castro M, Zanini-Maciel LM.** Hypothalamic-pituitary axis and peripheral tissue responses to TRH stimulation and liothyronine suppression tests in normal subjects evaluated by current methods. *Thyroid.* 2008;18:401-409.
23. **Doi SAR, Issac D, et al.** TRH stimulation when basal TSH is within the normal range: Is there “sub-biochemical” hypothyroidism?. *Clinical Medicine and Research.* 2007;3:145-148.
24. **Patel YC, Burger HG.** Serum thyrotropin (TSH) in pituitary and/or hypothalamic hypothyroidism: normal or elevated basal levels and paradoxical responses to thyrotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973;37:190-196.

25. **Prummel MF, Brokken LJS, Meduri G, Misrahi M, Bakker O, Wiersinga WM.** Expression of the thyroid-stimulating hormone receptor in the folliculo-stellate cells of the human anterior pituitary. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4347-53.
26. **Brokken LJS, Wiersinga WM, Prummel MF.** Thyrotropin receptor autoantibodies are associated with continued thyrotropin suppression in treated euthyroid Graves' disease patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4135-38.
27. **Chung YJ, Lee BW, Kim JY, Jung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, et al.** Continued suppression of serum TSH level may be attributed to TSH receptor antibody activity as well as the severity of thyrotoxicosis and the time to recovery of thyroid hormone in treated euthyroid Graves' patients. *Thyroid.* 2006;16:1251-57.
28. **Roden M, Nowotny P, Vierhapper H, Waldhäust W.** Diagnostic relevance of suppressed basal concentrations of TSH compared with the negative TRH test in detection and exclusion of hyperthyroidism. *Acta Endocrinol.* 1991;124:136-42.