

# Valores de tirotropina, triyodotironina libre y tiroxina libre en niños y adolescentes en la Comunidad Autónoma de Madrid mediante quimioluminiscencia

B. García Cuartero<sup>a</sup>, C. García Lacalle<sup>b</sup>, C. Jiménez Lobo<sup>b</sup>, V. Nebreda Pérez<sup>a</sup>, C. Calvo Rey<sup>a</sup>, A. García Vergaz<sup>a</sup>, N.J. Alcázar Villar<sup>a</sup> y M. de la Torre Verdú<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Pediatría. <sup>b</sup>Laboratorio de Bioquímica. Hospital Severo Ochoa. Madrid. España.

## Objetivo

El objetivo del presente trabajo ha sido establecer los valores de referencia de las hormonas tiroideas (tirotropina [TSH], triyodotironina [T<sub>3</sub>] libre y tiroxina [T<sub>4</sub>] libre) mediante quimioluminiscencia en niños y adolescentes de la Comunidad Autónoma de Madrid.

## Método

371 niños y adolescentes de ambos sexos, diferentes edades y estadios puberales, participaron en este estudio. Los valores de TSH y T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> libres en suero se determinaron mediante quimioluminiscencia.

## Resultados

Los valores de TSH y T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> libres disminuyen de forma inversamente proporcional a la edad cronológica con diferencias significativas entre los grupos prepuberales y puberales. Existen, además, diferencias puntuales entre sexos en algunos grupos.

## Conclusiones

Los valores de las hormonas tiroideas disminuyen con la edad cronológica. A la vista de las diferencias en los valores de estas hormonas entre sujetos prepuberales y puberales consideramos necesario incluir los diferentes estadios puberales en la estandarización de estas hormonas.

## Palabras clave:

*Triyodotironina libre. Tiroxina libre. Tirotropina. Niños. Quimioluminiscencia.*

## VALUES OF THYROTROPIN, FREE TRIIODOTHYRONINE AND FREE THYROXINE USING CHEMILUMINESCENCE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN THE AUTONOMOUS COMMUNITY OF MADRID (SPAIN)

### Objective

To establish the reference ranges of thyrotropin (TSH), free triiodothyronine (FT<sub>3</sub>) and free thyroxine (FT<sub>4</sub>) with the chemiluminescence method in healthy children and adolescents in Madrid, Spain.

### Method

A total of 371 children and adolescents of both sexes, with different ages and at different pubertal stage participated in the study. Serum values of TSH, FT<sub>3</sub>, and FT<sub>4</sub> were determined by chemiluminescence.

### Results

TSH, FT<sub>4</sub> and FT<sub>3</sub> reference ranges decreased inversely with chronological age. Significant differences were found between prepubertal and pubertal groups. In some groups, there were also occasional differences between sexes.

### Conclusions

Thyroid hormone levels decrease with chronological age. Because of the differences in hormone levels between prepubertal and pubertal subjects, we believe that different pubertal stages should be included in the standard reference values of these hormones.

**Correspondencia:** Dr. B. García Cuartero.  
Servicio de Pediatría. Hospital Severo Ochoa.  
Avda. Orellana, s/n. 28911 Leganés. Madrid. España.  
Correo electrónico: bgarcia@hsvo.insalud.es

Recibido en abril de 2002.

Aceptado para su publicación en noviembre de 2002.

**Key words:**

*Free triiodothyronine. Free thyroxine. Thyrotropin. Children. Chemiluminescence.*

**INTRODUCCIÓN**

Las hormonas tiroideas tienen un papel fundamental durante los primeros años de vida al participar en diferentes funciones básicas<sup>1</sup>. Para el diagnóstico de las enfermedades tiroideas es necesario establecer valores normales de referencia para poder interpretar dichos niveles en el contexto clínico del paciente. La quimioluminiscencia, como técnica de rutina para determinar los valores normales de hormonas tiroideas, muestra ventajas sobre la técnica de referencia (radioinmunoanálisis, RIA) como elevada sensibilidad, fácil automatización, residuos no radiactivos, productos con caducidad larga, cortos tiempos de reacción que permiten obtener rápidos resultados y un menor volumen de muestra, por lo que es un método rápido comparado con el RIA<sup>2,3</sup>.

En nuestro laboratorio se utiliza la quimioluminiscencia como técnica de rutina para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con enfermedad tiroidea, por lo que el objetivo del presente trabajo es estandarizar los valores de estas hormonas en niños y adolescentes con este método.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

En este estudio transversal participaron 371 niños y adolescentes sanos, de edades comprendidas entre un mes y 15 años de edad, procedentes de diferentes centros de salud del Área sur de Madrid, con el consentimiento informado de pacientes, padres y comité ético. Con el fin de obtener una muestra homogénea, los participantes se clasificaron en función de la edad, el sexo y el estadio puberal en 8 grupos (tablas 1 a 3). Los criterios de exclusión incluyeron: peso y talla menor o mayor de 2 desviaciones estándar (DE), prematuridad o bajo peso para la edad gestacional, presencia de enfermedades agudas y crónicas, estar bajo tratamientos agudos o crónicos y retraso mental.

Se registró el peso (kg), la altura (cm) y el estadio puberal según Tanner, considerando estadio II la presencia de botón mamario en la niñas y un volumen testicular igual o superior a 4 ml de Prader en los niños.

El tamaño muestral requerido para la estimación de medias, con un margen de error del 6% y un intervalo de confianza del 95%, fue de 350. Se incrementó en un 10% para mejorar la precisión del estudio.

En ayunas, de cada paciente se obtuvieron 2 ml de sangre de una vena antecubital, entre las 8:00 y las 10:00 h de la mañana, a lo largo del período de estudio. A continuación las muestras se centrifugaban y analizaban en el mismo día de la extracción.

**TABLA 1. Valores de referencia de tirotopina (mU/l)**

Edad	Mujeres			Varones			Total		
	N	Media (DE)	IC 95%*	N	Media (DE)	IC 95%*	N	Media (DE)	IC 95%*
Tanner I (meses)									
1-6	24	3,42 (1,54)	0,87-1,16	31	3,12 (1,34)	0,49-5,74	55	3,25 (1,42)	0,41-6,09
7-18	31	3,37 (1,02)	1,33-5,41	34	3,06 (1,29)	0,48-5,64	65	3,21 (1,17)	0,87-5,55
19-48 (19 meses-4 años)	22	2,92 (1,29)	0,34-5,50	35	2,99 (1,01)	0,97-5,01	57	2,96 (1,12)	0,72-5,20
49-84 (4-7 años)	18	2,59 (0,99)	0,61-4,57	25	3,08 (1,16)	0,76-5,40	43	2,87 (1,11)	0,65-5,09
85-160 (7-13,5 años)	18	2,45 (0,92)	0,61-4,29	21	2,84 (1,05)	0,74-4,94	39	2,66 (1,00)	0,66-4,66
Tanner II	20	2,27 (0,57)	1,13-3,41	13	2,43 (1,10)	1,03**-4,63	33	2,33 (0,81)	0,71-3,95
Tanner III	19	2,39 (0,87)	0,65-4,13	8	2,01 (0,93)	0,99**-3,87	27	2,27 (0,89)	0,49-4,05
Tanner IV-V	24	2,60 (1,18)	1,16**-4,96	7	1,91 (1,14)	0,95**-4,19	31	2,44 (1,19)	1,07**-4,82

\*Intervalo de confianza del 95% = media  $\pm$  1,96 desviaciones estándar (DE). \*\*Percentil 2,5 (véase texto).

N: número.

**TABLA 2. Valores de referencia de triyodotironina libre (pmol/l)**

Edad	Mujeres			Varones			Total		
	N	Media (DE)	IC 95%*	N	Media (DE)	IC 95%*	N	Media (DE)	IC 95%*
Tanner I (meses)									
1-6	17	6,25 (0,49)	5,27-7,24	25	6,24 (0,63)	4,98-7,50	42	6,23 (0,57)	5,10-7,38
7-18	28	6,50 (0,65)	5,21-7,79	31	6,60 (0,79)	4,79-7,93	59	6,42 (0,72)	4,97-7,87
19-48 (19 meses-4 años)	21	6,31 (0,55)	5,21-7,42	35	6,27 (0,66)	4,94-7,59	56	6,28 (0,61)	5,05-7,52
49-84 (4-7 años)	16	6,11 (0,57)	4,97-7,25	24	6,05 (0,51)	5,04-7,07	40	6,06 (0,52)	5,02-7,12
85-160 (7-13,5 años)	14	6,41 (0,45)	5,51-7,30	20	5,85 (0,71)	4,44-7,27	34	5,97 (0,73)	4,50-7,45
Tanner II	14	5,85 (0,54)	4,77-6,93	9	5,68 (0,20)	5,28-6,08	23	5,79 (0,44)	4,90-6,68
Tanner III	16	6,04 (0,46)	5,11-6,96	7	5,85 (0,35)	5,14-6,56	23	5,97 (0,44)	5,08-6,87
Tanner IV-V	21	5,62 (0,71)	4,21-7,04	6	5,82 (0,45)	4,93-6,72	27	5,66 (0,66)	4,34-6,99

\*Intervalo de confianza del 95% = media  $\pm$  1,96 desviaciones estándar (DE). N: número.

TABLA 3. Valores de referencia de tiroxina libre (pmol/l)

Edad	Mujeres			Varones			Total		
	N	Media (DE)	IC 95%*	N	Media (DE)	IC 95%*	N	Media (DE)	IC 95%*
Tanner I (meses)									
1-6	20	15,09 (1,68)	11,74-18,45	28	13,93 (1,94)	10,06-17,80	48	14,51 (1,94)	10,58-18,32
7-18	29	14,71 (1,42)	11,87-17,54	33	15,35 (1,81)	11,74-18,96	62	14,96 (1,55)	11,87-18,06
19-48 (19 meses-4 años)	22	14,96 (1,96)	11,09-18,83	34	14,58 (1,68)	11,22-17,93	56	14,71 (1,81)	11,09-18,32
49-84 (4-7 años)	17	14,09 (1,68)	10,71-17,42	24	14,71 (1,29)	12,13-17,29	41	14,45 (1,55)	11,35-17,54
85-160 (7-13,5 años)	17	15,74 (1,81)	12,13-19,35	20	15,35 (1,55)	12,26-18,45	37	15,48 (1,68)	12,13-18,83
Tanner II	17	14,06 (1,94)	10,19-17,93	11	14,71 (1,81)	11,09-18,32	28	14,32 (1,81)	10,71-17,93
Tanner III	17	13,80 (1,81)	10,19-17,42	7	13,03 (2,06)	8,90-17,16	24	13,42 (1,81)	9,80-17,03
Tanner IV-V	21	13,67 (1,94)	9,80-17,54	6	13,80 (1,81)	10,19-17,42	27	13,67 (1,81)	10,06-17,29

\*Intervalo de confianza del 95% = media  $\pm$  1,96 desviaciones estándar (DE). N: número.

### Tirotropina

La determinación de tirotropina (TSH) se realizó en el Advia Centaur (Bayer) mediante quimioluminiscencia directa. Se trata de un inmunoanálisis tipo sándwich de 2 puntos que utiliza cantidades constantes de dos anticuerpos. El primer anticuerpo es un anticuerpo monoclonal de ratón anti-TSH, marcado con éster de acridinio. El segundo anticuerpo es un anticuerpo policlonal de oveja anti-TSH, acoplado de forma covalente a partículas paramagnéticas.

Este método mide concentraciones de TSH hasta 150 mU/ml, con una concentración mínima detectable de 0,02 mU/ml. Las precisiones intraserie e interserie (2,48-2,41 y 2,05-5,31 %, respectivamente) cumplen los requisitos establecidos por la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).

El rango de referencia en adultos eutiroideos oscila entre 0,35 y 5,5 mU/l.

### Triyodotironina libre

La concentración de triyodotironina ( $T_3$ ) libre se midió mediante la técnica de quimioluminiscencia directa, según un inmunoanálisis competitivo en el que la  $T_3$  libre de la muestra compite con la  $T_3$  análoga, unida covalentemente a partículas paramagnéticas, por una cantidad limitada de anticuerpos anti- $T_3$  monoclonales de ratón marcados con éster de acridinio.

Este método mide concentraciones de  $T_3$  libre hasta 30,8 pmol/l, con una concentración mínima detectable de 0,46 pmol/l.

El rango de referencia en adultos eutiroideos oscila entre 3,54 y 6,46 pmol/l.

### Tiroxina libre

Al igual que la TSH y la  $T_3$  libre, la determinación de tiroxina ( $T_4$ ) libre se realizó mediante quimioluminiscencia directa en el mismo autoanizador de Bayer. Se trata de un inmunoanálisis competitivo en el cual la  $T_4$  libre de la muestra del paciente compite con la  $T_4$  marcada con éster de acridinio por una cantidad limitada del anticuer-

po anti- $T_4$  policlonal de conejo, que está acoplado de forma covalente a partículas paramagnéticas.

Este método mide concentraciones de  $T_4$  libre hasta 154,8 pmol/l, con una concentración mínima detectable de 1,29 pmol/l.

El rango de referencia en adultos eutiroideos oscila entre 11,48 y 23,22 pmol/l.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores de referencia se han clasificado según edad, sexo y estadio puberal en 8 grupos (tablas 1 a 3). En cada grupo se detectaron los valores alejados y extremos siguiendo el método de Turkey, los cuales se mantuvieron o eliminaron del análisis siguiendo las recomendaciones de la IFCC<sup>4,5</sup>.

Para estudiar si los datos seguían la distribución normal se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, así como la prueba de Shapiro-Wilk cuando el número de casos era inferior a 30.

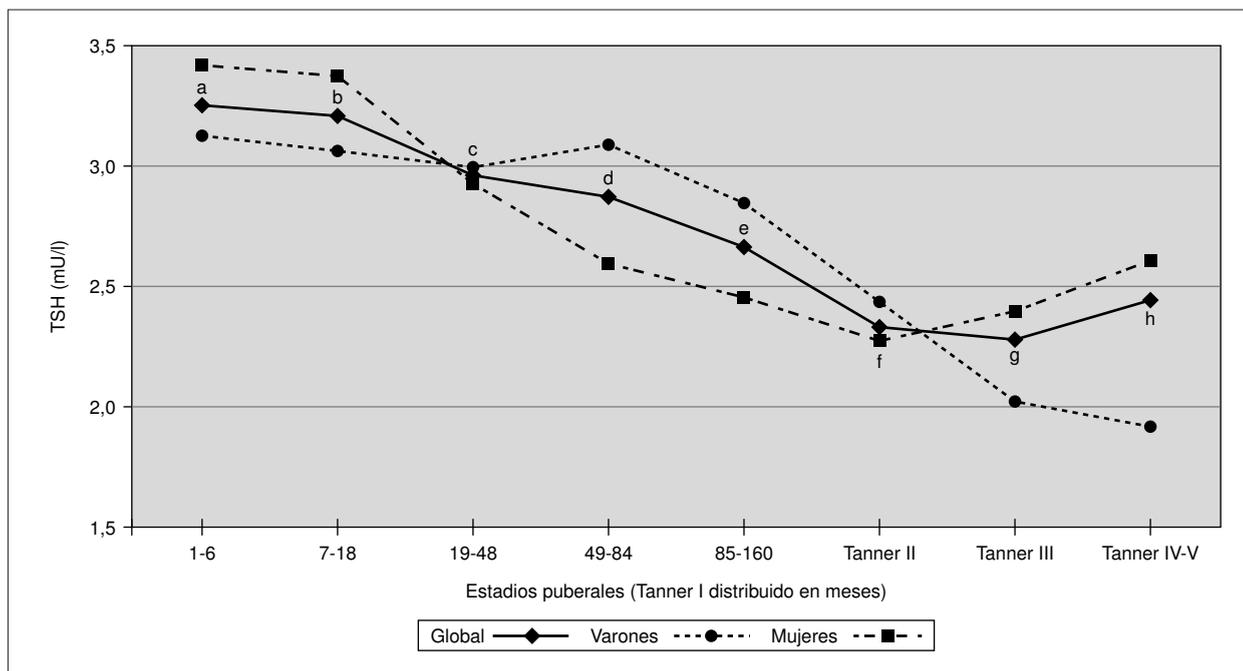
La búsqueda de diferencias estadísticamente significativas entre sexos en cada grupo de edad se ha realizado mediante las pruebas de la t de Student y U de Mann-Whitney, mientras que para analizar los cambios entre los grupos de edad se utilizaron el análisis de la varianza, la corrección de Bonferroni y la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

La homogeneidad de varianzas entre grupos se valoró mediante la prueba de Levene<sup>6</sup>.

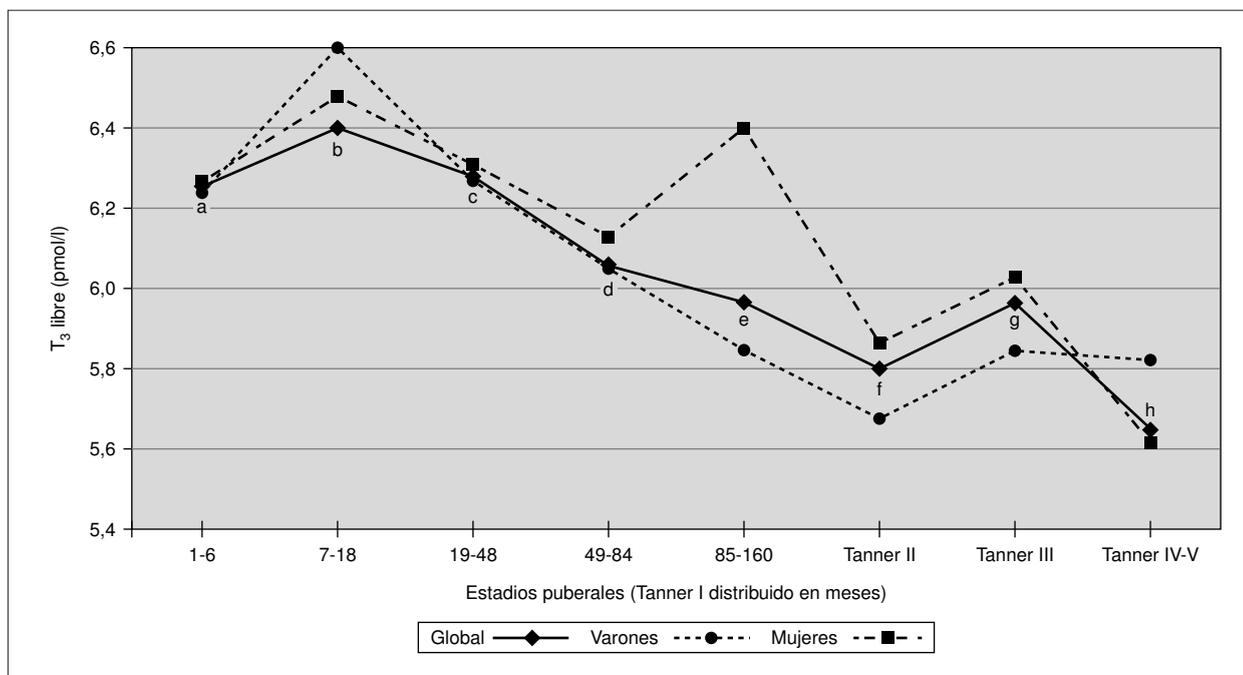
El nivel de significación estadística establecido es  $p < 0,05$ . El análisis estadístico de los datos se ha efectuado mediante el programa SPSS 8.0.

### RESULTADOS

Se estudiaron 371 pacientes, distribuidos por sexo y estadio puberal según queda reflejado en las tablas 1 a 3 y las figuras 1 a 3 (los niños en el estadio Tanner I fueron clasificados según edad cronológica), de los cuales finalmente se han obtenido 350 valores de TSH, 323 de  $T_4$  libre y 304 de  $T_3$  libre. Se eliminaron todos los valores aberrantes.



**Figura 1.** Valores de referencia pediátricos de tirotopina (TSH) en suero. X (DE): a: 3,25 (1,42); b: 3,21 (1,17); c: 2,96 (1,12); d: 2,87 (1,11); e: 2,66 (1,00); f: 2,33 (0,81); g: 2,27 (0,89); h: 2,44 (1,19).

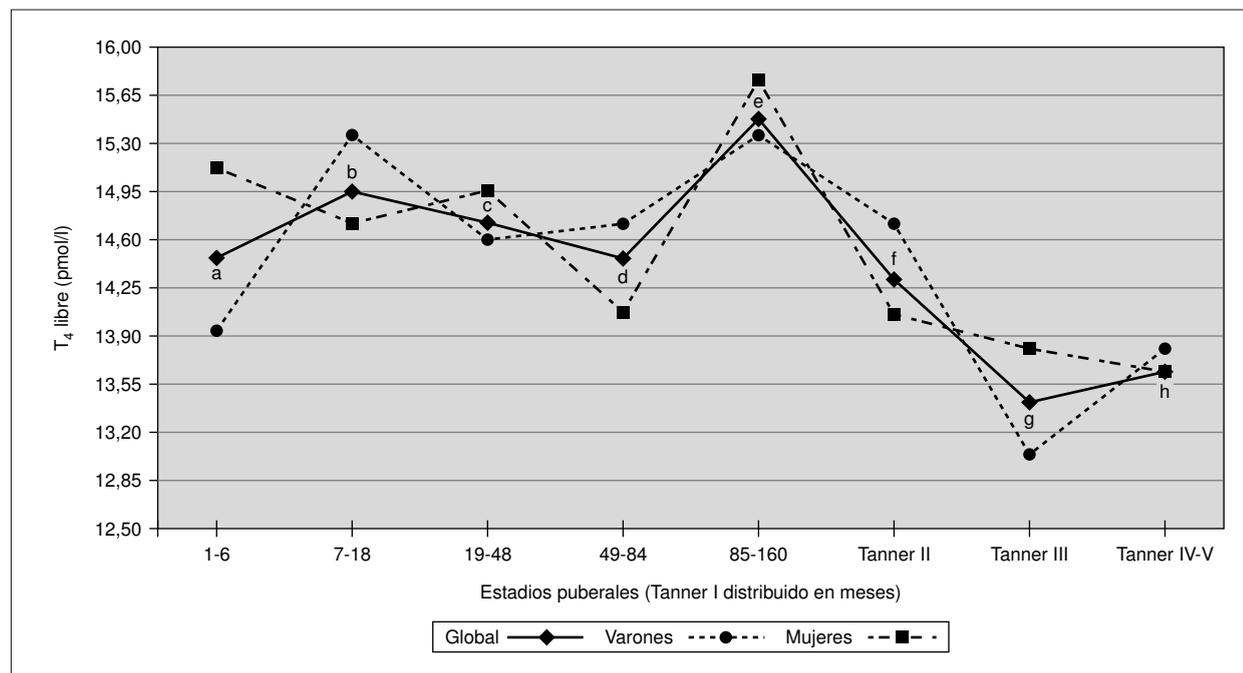


**Figura 2.** Valores de referencia pediátricos de triyodotironina ( $T_3$ ) libre en suero. X (DE): a: 6,23 (0,57); b: 6,42 (0,72); c: 6,28 (0,61); d: 6,06 (0,52); e: 5,97 (0,73); f: 5,79 (0,44); g: 5,97 (0,44); h: 5,66 (0,66).

### Tirotopina

La tabla 1 refleja los resultados obtenidos para esta variable. Debido a la variabilidad de esta hormona en algunos grupos, el límite inferior del intervalo de referencia se expresó como percentil 2,5.

Estudiado cada grupo de edad, únicamente se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre sexos ( $p = 0,043$ ) en el grupo en estadio Tanner IV-V, mostrando las niñas una concentración de TSH superior a los varones (2,60 mU/l frente a 1,90 mU/l).



**Figura 3.** Valores de referencia pediátricos de tiroxina ( $T_4$ ) libre en suero. X (DE): a: 14,45 (1,94); b: 14,96 (1,55); c: 14,71 (1,81); d: 14,45 (1,55); e: 15,48 (1,68); f: 14,32 (1,81); g: 13,42 (1,81); h: 13,67 (1,81).

La concentración de TSH disminuye progresivamente desde el primer mes de vida. Existen diferencias significativas entre el estadio prepuberal y los siguientes estadios puberales: Tanner II, III y IV-V ( $p = 0,007$ ,  $p = 0,008$  y  $p = 0,046$ , respectivamente) (v. fig. 1).

En el caso de las niñas, se aprecia una tendencia lineal estadísticamente significativa en la fase prepuberal ( $p = 0,001$ ). Esta fase muestra igualmente diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,039$ ) con respecto al grupo en estadio Tanner II. Observando la figura 1 puede comprobarse cómo este grupo muestra las concentraciones más bajas de la variable, las cuales aumentan ligeramente en los estadios posteriores, aunque sin alcanzar los niveles iniciales. Este ascenso en los estadios Tanner III y IV-V no se objetiva en el grupo de los varones.

### Triyodotironina libre

La tabla 2 refleja los valores de esta variable.

De forma global, las concentraciones de  $T_3$  libre disminuyen a medida que aumenta la edad (v. fig. 2). Existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos prepuberales y puberales para ambos sexos ( $p = 0,004$ ), pero mientras en las niñas se observa un ascenso significativo de los valores de esta hormona en el grupo 85-160 meses ( $p = 0,014$ ), los varones de este grupo presentan valores semejantes a los grupos puberales (v. tabla 2).

### Tiroxina libre

Las concentraciones de referencia de  $T_4$  libre se reflejan en la tabla 3.

En general, los valores de  $T_4$  libre en los estadios prepuberales muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p = 0,014$ ), fundamentalmente entre el grupo de 1-6 meses y el grupo 85-160 meses de edad ( $p = 0,028$ ).

Por otro lado, se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los valores de referencia entre los estadios prepuberales y los estadios Tanner III y IV-V ( $p = 0,003$  y  $p = 0,014$ , respectivamente), con niveles de  $T_4$  libre ligeramente inferiores en el último grupo.

## DISCUSIÓN

La determinación plasmática de las hormonas tiroideas en la infancia es un arma fundamental para el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades tiroideas, junto con los datos clínicos<sup>1</sup>. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue establecer los valores de referencia de estas hormonas en niños y adolescentes sanos mediante quimioluminiscencia. Uno de los puntos fundamentales en la estandarización hormonal son las distintas metodologías empleadas por los diferentes autores, así como la selección de los sujetos<sup>7</sup>. Por ello, dichos sujetos se han agrupado de acuerdo con otros autores<sup>8</sup>. Los niños menores de un mes de edad se excluyeron por motivos técnicos. Además, se han tenido en cuenta los estadios puberales al demostrar algunos autores diferencias en este aspecto, en los resultados hormonales<sup>9</sup>. El número de sujetos en algunos grupos (estadios Tanner IV-V) fue bajo por la dificultad de obtener muestras de sujetos sanos en estas edades.

Hasta ahora no hay valores de referencia de TSH y  $T_3$  y  $T_4$  libres en niños y adolescentes con la técnica de quimioluminiscencia. Las ventajas de esta técnica se han demostrado claramente, aunque reseñaremos su alta sensibilidad<sup>2</sup>.

Las tres variables disminuyen de forma inversamente proporcional a la edad cronológica, en particular la TSH y la  $T_3$  libre, como otros autores han referido con otras técnicas<sup>9-11</sup>.

Los valores de TSH alcanzan un valor máximo de 5,74 mU/l en el grupo de hombres de 1-6 meses de edad y el valor más bajo de 0,44 mU/l en el grupo de mujeres de 18-48 meses de edad (v. tabla 1). Estos datos son similares a otros autores<sup>8,9</sup>.

Por otro lado, aunque el hipertiroidismo no es una enfermedad frecuente en la infancia, hemos creído necesario establecer los valores de referencia de  $T_3$  libre debido a que los valores de esta hormona se elevan más precozmente que los de la  $T_4$  libre, por lo que se puede obtener un diagnóstico más precoz.

En este trabajo los valores de  $T_3$  libre disminuyen de forma inversamente proporcional con la edad. El límite superior obtenido fue 7,93 pmol/l para el grupo de niños varones de 7-18 meses de edad, y el valor más bajo fue 4,21 pmol/l para el grupo de mujeres en estadios Tanner IV-V (v. tabla 2). Estos resultados son similares, aunque algo inferiores a los descritos por Verheecke<sup>12</sup>, a pesar de ser diferente el ensayo. Sí encontramos diferencias entre grupos prepuberales y puberales, algo que no ha descrito Verheecke. De acuerdo con Butler y Soldin encontramos un incremento de los valores de  $T_3$  libre en las mujeres de 85-160 meses justo antes de la pubertad<sup>13,14</sup>. Otros autores describen para esta edad una disminución de los valores de  $T_3$  total. Estos datos pueden deberse a los cambios en las proteínas transportadoras de hormonas tiroideas por la influencia de los esteroides sexuales femeninos, algo que no se ha descrito en los varones<sup>15</sup>. Finalmente los valores de  $T_3$  disminuyen al final de la pubertad como otros autores han publicado<sup>12</sup>.

Por otro lado, los valores de  $T_4$  libre son similares a los descritos por Cortés-Blanco et al<sup>8</sup> a pesar de emplear una técnica diferente. El valor más alto fue de 19,35 pmol/l en el grupo de mujeres de 85-160 meses de edad y el más bajo de 8,9 pmol/l en el grupo de hombres en estadio de Tanner III (v. tabla 3). Los valores de  $T_4$  libre disminuyen en los estadios ya puberales. En general, todos los valores para esta hormona son más bajos que otros publicados<sup>9,10</sup>.

En este trabajo se han establecido los valores de referencia de las hormonas tiroideas en nuestra población mediante la técnica de quimioluminiscencia. En general, los valores de TSH y  $T_3$  y  $T_4$  libres disminuyen inversamente a la edad cronológica. Algunos grupos puntuales muestran diferencias entre sexos para las tres variables. Existen di-

ferencias significativas entre grupos prepuberales y puberales. Con estos datos consideramos necesario incluir los diferentes estadios puberales en la estandarización de estas hormonas. Sería interesante realizar estudios posteriores para comprobar si las diferencias puntuales descritas en los valores de  $T_3$  libre tienen implicaciones clínicas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Calvo R, Escobar del Rey F. Maternal thyroid hormones during pregnancy: Effects in the fetus in congenital hypothyroidism and in iodine deficiency. En: Beven BB, Shulman DT, editors. *Advances in Perinatology. Thyroidology*. New York: Press 1991; p. 133-6.
2. Whitehead TP, Kricla J, Cater JW, Thorpe G. Analytical luminiscence: Its potential in the clinical laboratory. *Clin Chem* 1979; 259:1531-46.
3. Kricla LJ. *Chemiluminiscence immunoassay. The immunoassay handbook*, 1st ed. New York: Stockton Press, 1994; p. 341-3.
4. Turkey JW. *Exploratory Data Analysis*. Reading: Addison-Wesley, 1977.
5. Solberg HE, Stamm D. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference values. IFCC recommendation: The theory of reference values. Part 4: Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *J Aut Chem* 1991;13:231-4.
6. Levene H. Robust tests for equality of variance. En: Olkin L et al, eds. *Contributions to probability and statistics: Essays in honor of Harold Hotelling*. Standford: University Press, 1960.
7. Wiedeman G, Jonetz-Mentzel L, Panse R. Establishment of reference ranges for thyrotropin, triiodothyronine, thyroxine and free thyroxine in neonates, infants, children and adolescents. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993;31:277-88.
8. Cortés-Blanco A, Mayayo Dehesa E, Ferrandez Longas A, Labarta Aizun JF, Martínez-Lázaro R. Valores de referencia de hormonas tiroideas en niños sanos zaragozanos. *An Esp Pediatr* 1999;51:361-8.
9. Zurakowski D, Di Canzio J, Majzoub JA. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin, and free thyroxine. *Clin Chem* 1999;45:1087-91.
10. Nelson JC, Clark SJ, Borut DL, Tomei RT, Carlton EL. Age-related changes in serum free thyroxine during childhood and adolescence. *J Pediatr* 1993;123:899-905.
11. Penny R, Spencer CA, Frasier D, Nicoloff JT. Thyroid-stimulating hormone and thyroglobulin levels decrease with chronological age in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:177-80.
12. Verheecke P. Free triiodothyroxine in serum of 1050 euthyroid children inversely related to their age. *Clin Chem* 1997;43: 963-7.
13. Butler J, Moore O, Mieli-Vergani G, Moniz C. Serum Free thyroxin and free tri-iodothyronine in normal children. *Ann Clin Biochem* 1988;25:536-9.
14. Soldin SJ, Morales A, Albalos F, Lenherr S, Rifai N. Pediatric reference ranges on the Abbott IMX for FSH, LH, prolactin, TSH,  $T_4$ ,  $T_3$  free  $T_4$ , t-uptake, IgE and ferritin. *Clin Biochem* 1995;28:603-6.
15. Smallrigdge RC. Thyroid function tests. En: Becker KL, ed. *Principles and practice of endocrinology and metabolism*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1995; p. 299-306.