

ESTIMULACIÓN CON TRH Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE LA TSH EN PERROS. SU IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD TIROIDEA SUBCLÍNICA (HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO Y TIROIDITIS AUTOINMUNE EUTIROIDEA)

TSH Response to TRH Stimulation Test on Dogs. Diagnostic Importance on Subclinic Thyroid Disease (Hypothyroidism and Euthyroid Autoimmune Thyroiditis)

Víctor A. Castillo, María S. Rodríguez y José C. Lalia

Servicio de Endocrinología, Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. E-mail : vcastill@fvet.uba.ar

RESUMEN

El diagnóstico de hipotiroidismo es realizado midiendo TSH, tiroxina total o libre (T₄ o T₄L) y el anticuerpo antitiroglobulina (AcTg) para determinar origen etiológico. Según la bioquímica endocrina, se clasifica en 4 estadios, siendo el I y II subclínicos. En el II estadio la TSH se encuentra elevada y la tiroxina normal. En el estadio I la TSH y T₄ están normales pero con hiperrespuesta a la estimulación con TRH. Por este motivo, una medición de TSH y T₄ normales no significan eutiroidismo. Para obtener datos de referencia, se estudiaron 25 perros con valores de hormonas tiroideas y AcTg normales. Se les realizó estimulación con TRH, inyectando 200 µg TRH I.V. midiendo TSH basal (TSH b) y 15 minutos (TSH 15m) post TRH. El resultado de la prueba es la diferencia entre TSH b y TSH 15m (= A TSH). Los datos fueron comparados con 15 caninos con tiroiditis autoinmune (TAI) y medición de TSH y T₄L normal, grupo A, y con 10 caninos sin TAI y TSH y/o T₄ en los valores límites, grupo B. El máximo calculado de TSH 15m fue de 0,5 ng/mL. El rango para ATSH fue entre 0,1 a 0,25 (A 1 - A 2,5 TSH). El ATSH de 11 perros del grupo A y 3 del B, fue >0,3 (A 3 TSH). Se concluye que la estimulación con TRH es diagnóstica del hipotiroidismo subclínico Estadio I en el canino, siendo indicada en casos de hallarse concentraciones normales de hormonas tiroideas con TAI, o en el valor límite sin TAI.

Palabras clave: TRH, hipotiroidismo, estimulación TRH-TSH, tiroiditis autoinmune.

ABSTRACT

The hypothyroidism is diagnosed by dosaging the TSH, Total or Free Thyroxine, (T₄ or FT₄) and thyroideoglobuline antibody (TgAb), to determine ethiology. Upon the endocrine biochemistry, it is classified in 4 stages, being stage I and II subclinical. The stage II is characterized by being the TSH elevated and the thyroxine normal. On stage I the TSH and T₄ are normal, having an hyperresponse to the stimulation with TRH. For this reason, a dosage of normal TSH and T₄ do not mean euthyroidism. In order to get reference datas, 25 dogs, with normal values of thyroid hormones and TgAb, were studied. They were stimulated with dosis of 200 µg TRH I.V., dosaging basal TSH levels (bTSH) and 15 minutes (15mTSH) post TRH. The test result was the difference between the bTSH and the 15mTSH (= A TSH). The datas were compared with 15 dogs with autoimmune thyroiditis (AT) and normal concentration of TSH and FT₄, group A, and with 10 dogs without AT, but with TSH and/or T₄ at the limit values, group B. Maximum 15mTSH was 0.5 ng/mL and ATSH range was between 0.1 to 0.25 (A1 - A 2.5 TSH). The A TSH of 11 dogs of the group A, and 3 of the group B was >0.3 (A 3 TSH). We conclude that the stimulation with TRH is diagnostic of subclinic hypothyroidism Stage I, in the dog, being indicated in cases of finding normal concentrations of TSH and T₄ with AT or on limit values without AT.

Key words: TRH, hypothyroidism, TRH-TSH response test, autoimmune thyroiditis.

INTRODUCCIÓN

El hipotiroidismo (Ho) es la endocrinopatía de mayor frecuencia en el canino [12]. Su diagnóstico se ha realizado históricamente mediante la medición en suero de la concentración de tiroxina [3, 13], tanto su fracción libre como la unida a proteína (T_4L y T_4). Recientemente se pudo aislar la tirotrófina canina (cTSH) y desarrollar un anticuerpo monoclonal contra ella, permitiendo su medición en suero [14, 18]. Este evento, junto con el desarrollo de un ensayo bioquímico de anticuerpo antitiroglobulina (AcTg) canina [6], permitió realizar diagnósticos con mayor confiabilidad, pudiéndose determinar si la causa del Ho era o no una tiroiditis autoinmune (TAI).

Esta endocrinopatía presenta un perfil bioquímico caracterizado por altos niveles de TSH y bajos de T_4 , presentando expresión clínica evidente. Sin embargo, en medicina humana, se describen 2 tipos de situaciones bioquímicas respecto a la concentración de TSH y T_4 . Una, es el caso de individuos que sólo presentan aumento de la TSH, siendo su nivel de T_4 normal. Otra, es aquella donde la TSH y T_4 se hallan en concentraciones normales, pero al estudiar la respuesta de la TSH a la estimulación con TRH (hormona liberadora de tirotrófina), la TSH aumenta significativamente su concentración en suero [2, 11, 19] y con una signoología clínica inespecífica. Estos cuadros bioquímico-endocrinos del Ho, permiten clasificarlo en 4 estadios, TABLA I, correspondiendo los 2 primeros al hipotiroidismo subclínico (HoS) [2, 5, 19]. La T_4 se encuentra normal en el estadio II a expensas de una elevación de la TSH con el objeto de mantener el estado eutiroideo. En el estadio I, si bien hay una regulación del eje tiroideo por la T_4 , ésta es insuficiente a nivel hipofisario, habiendo una mayor sensibilidad a la acción del TRH. Al inyectar TRH se produce una secreción exagerada de TSH debido a esta mayor sensibilización. La explicación de ambos fenómenos se fundamenta en los receptores a hormonas tiroideas (HT) en hipófisis. El tejido hipofisario es el que posee mayor número de receptores a HT con un porcentaje de saturación mayor que otros órganos blanco. Por lo tanto la hipófisis detecta antes que el resto del organismo el déficit de HT y lo compensa incrementando la secreción de TSH [8, 19].

Es justamente el HoS el que presenta dificultad diagnóstica, por tener signoología clínica difusa [14], consistente en sebo-

rra seca persistente, tendencia a la obesidad, alteraciones reproductivas [4, 12] (hembras subfértiles con alteración entre el número de embriones y fetos nacidos) motivando la consulta de criadores o propietarios. De no ser tratado a tiempo, evoluciona a la forma clínica, ocasionando trastornos, especialmente en animales destinados a ser usados como reproductores. Surge entonces, la necesidad de diagnosticar el Ho en sus estadios más tempranos, a través de un diagnóstico precoz.

Si bien varios autores anglosajones sólo consideran hipotiroideos a los individuos que presentan una T_4 disminuida [3, 12, 13], es un hallazgo frecuente en la práctica clínica identificar perros con diagnóstico presuntivo de Ho, con niveles de T_4 dentro del rango normal. Por este motivo no se debe descartar la enfermedad en estos pacientes [14, 17]. Con el propósito de poder esclarecer esta situación clínica, se recurrió a la realización de pruebas dinámicas que evaluaran el funcionamiento tiroideo estudiando el incremento de la T_4 , ya sea luego de estimular directamente la tiroides con TSH [3, 17], o indirectamente con TRH [3, 7, 17].

Con el desarrollo de la cTSH, se inició el diagnóstico de casos que correspondían al II estadio [14], sin embargo aún quedaban sin diagnóstico pacientes sospechosos a esta patología. Estos presentaban dos situaciones diferentes: a) perfil bioquímico-endocrino con TSH y T_4 normales, pero cerca del valor crítico, y b) animales con TAI por tener un título de AcTg elevado, con TSH y T_4 normales. Teniendo como objetivo realizar un diagnóstico precoz y preciso del HoS de I estadio, se decidió estudiar, al igual que en medicina humana, la respuesta de la TSH al TRH. Es conocido que en perros normales, la TSH llega a un pico post estimulación a los 15 minutos según Sustarcic y col. [18]. Otros autores describen este pico a los 30 minutos [15]. Se han planteado diferentes opiniones de como interpretar la prueba, respuesta máxima de TSH alcanzada (estableciendo un valor crítico post TRH) [1, 11], cálculo del área bajo la curva [7, 16], porcentaje del valor basal (>200% del basal post TRH) o la diferencia entre el valor de TSH a los 15 minutos (TSH 15m) y el basal (TSHb), denominándose delta de variación TSH (Δ TSH) [10, 11]. Este último cálculo toma en cuenta tanto el porcentaje del valor basal como la respuesta máxima post estimulación.

El objetivo del presente trabajo fue determinar que cantidad de perros con TSH normal, con o sin TAI, son HoS de

TABLA I
CLASIFICACIÓN DEL HIPOTIROIDISMO SEGÚN CUADRO BIOQUÍMICO-ENDOCRINO

	TRH-TSH	TSHb	T_4/T_4L	T_3
Eutiroideos	N	N	N	N (*)
Estadio I	+	N	N	N
Estadio II	++	↑	N	N
Estadio III	++	↑↑	↓	N
Estadio IV	++	↑↑↑	↓↓	↓

* El AcTg puede estar elevado, siendo un eutiroideo con TAI. Los Estadios I y II corresponden al Hipotiroidismo subclínico, mientras que el III y IV al clínico. += Hiperrespuesta. N = normal. Las flechas indican elevación o disminución de las hormonas. T_3 (tri-yodotironina).

II estadio, y cual es la interpretación de la prueba de respuesta de la TSH al TRH que permita mayor discriminación diagnóstica entre eutiroides, HoS de II estadio y eutiroides con TAI deben ser controlados en forma periódica.

Debido que la glándula tiroidea puede presentar diferentes patologías (hipertiroidismo, carcinoma tiroideo, Ho, TAI eutiroides, hipoplasias), se hace referencia al estado de la glándula como enfermedad tiroidea o patología tiroidea.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población testigo bajo estudio

Fueron estudiados 25 caninos libres de patología tiroidea, considerados así por un perfil bioquímico endocrino dentro de los valores normales.

La concentración cTSH (rango de referencia 0,02 – 0,35 ng/mL) fue evaluada por método IRMA (ensayo inmunoradiométrico, cTSH DPC 8) y la T₄L (rango 0,7 – 2,5 ng/dl) por método RIA (radioinmunoensayo canino específico). El estudio del AcTg (valor normal <160%) se realizó por ELISA (enzimoensayo), utilizando el kit comercial de Oxford Biomedical, MI.

Estimulación con TRH

Se inyectaron por vía endovenosa 0,2 mg (200 µg) totales de TRH (TRHFerring 8). Se obtuvieron 2 muestras de suero, una previa a la administración de TRH (muestra basal de TSH) y otra a los 15 minutos post estimulación [18].

Se calculó el ATSH, resultando de la diferencia entre el valor de TSHb y TSH 15m [10].

Población con enfermedad tiroidea o sospechosos de ella sometida a estudio dinámico con TRH

El criterio de selección e inclusión para realizar la estimulación fue el siguiente: a) animales con TAI (AcTg >160%), con TSH y T₄L dentro del rango de referencia normal. b) Animales sin TAI (AcTg <160%) y con TSH y T₄L en los valores críticos máximo (TSH) y mínimo (T₄L).

De un total de 80 perros que se refirieron al Servicio de Endocrinología del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias –UBA, bajo sospecha de hipotiroidismo, fueron seleccionados 25 animales, de los cuales 15 presentaban TAI (Grupo A) y 10 sin TAI pero valores extremos (Grupo B). En ambos grupos se realizó la estimulación con TRH siguiendo la metodología descrita anteriormente. Cabe mencionar que 2 casos presentaron HoS de II estadio.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan en promedio ± DS, comparando las medias por el test de Mann-Whitney (no paramétricos), debido que la TSH no sigue una distribución gaussiana, con un nivel de significación P<0,05. El nivel crítico post TRH

se estimó por cálculos de percentiles, tomando como referencia el percentil 99 (P99), o ± 2DS del promedio.

RESULTADOS

La concentración máxima (nivel crítico) de TSH 15m de la población testigo, fue de 0,50 ng/mL, FIG.1, siendo su media 0,29 + 0,1 (+ DS). El promedio de TSHb fue de 0,15 + 0,07. El ATSH calculado tuvo un rango entre 0,1 a 0,25 (A 1 a A 2,5 TSH), FIG. 2, siendo el promedio 0,14 ± 0,05 (± DS). De la población con patología tiroidea, la concentración de TSHb se ubicó dentro del rango de referencia en ambos grupos. En 9 perros del grupo A, la TSH 15m fue superior a 0,50 ng/mL, y 6 de ellos hubo respuesta dentro de rango normales, llegando en 2 perros al valor límite, FIG. 1. El ATSH en 11 casos fue superior a 0,3 (2 casos dentro del rango de respuesta normal). En los otros 4 casos el ATSH fue <0,25, FIG. 2. De los individuos del grupo B, sólo 3 presentaron hiperrespuesta al TRH, siendo su ATSH >3. Los restantes presentaron normorrespuesta y un ATSH < 0,25, FIGS.1 y 2.

Al comparar los promedios de TSH 15m (0,57 ± 0,2) y ATSH (0,36 ± 0,16) de la población con patología tiroidea (14 casos totales) y el grupo testigo, existe diferencia significativa (P<0,0001) entre ambas.

De acuerdo a los datos obtenidos, se observa que del total de animales con Ho (n=73), el 21,9% tiene HoS (incluye 2 casos con hipotiroides de II estadio), el 5,47% TAI eutiroides y el resto Ho clínico, FIG. 3. Siete perros, del total de 80 evaluados, resultaron eutiroides sin patología tiroidea de acuerdo a la respuesta a la estimulación con TRH y los AcTg <160%.

DISCUSIÓN

La respuesta de la TSH al TRH es un método útil y sensible para diagnosticar el HoS de II estadio. También logra diferenciar entre aquellos individuos con TAI e Ho [2], de aquellos que sólo presentan TAI eutiroides, FIG. 1, debiéndose seguir su evolución. En los casos de animales sin TAI, pero con valores basales de TSH o T₄L en los límites de normalidad, es importante como confirmación diagnóstica de enfermedad tiroidea incipiente en casos de duda [15, 17].

El valor ATSH, FIG. 2, resultó ser más sensible como diagnóstico que el valor máximo de TSH 15m, ya que se observó en 6 casos del grupo A una aparente normorrespuesta y en 2 casos llegando al límite máximo, con lo cual no se despojaron las sospechas de Ho. En 4 de éstos casos el ATSH fue superior a 2,5, siendo determinante para la confirmación del HoS. Es probable que de medirse la concentración de TSH a los 30 minutos, tal como lo propuesto por Ramsey y col. [15], éstas hubieran superado el valor de 0,5 ng/mL. Es importante destacar que éstos animales tienen TAI, lo cual hace aún más confiable el método, ya que se determinó fehacientemente que los individuos estudiados presentan enfermedad tiroidea.

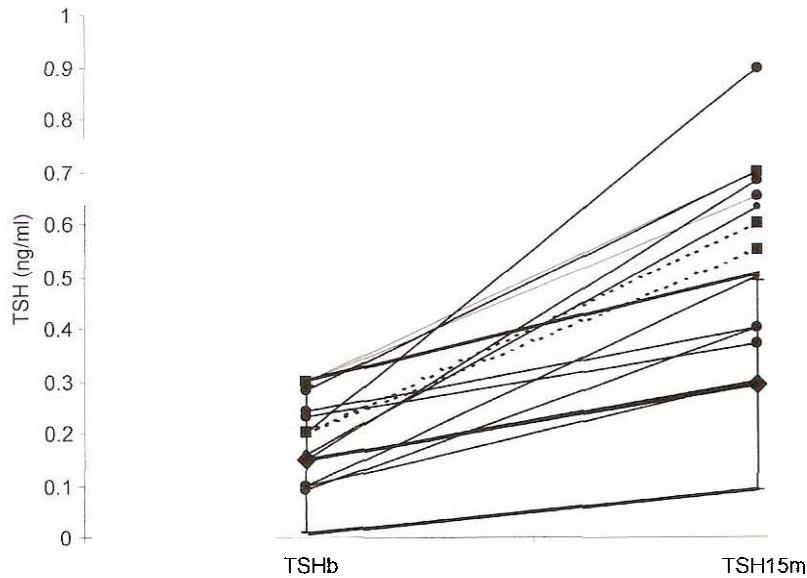


FIGURA 1. PRUEBA DE RESPUESTA DE LA TSH AL TRH. EL **ÁREA** EN RECUADRO REPRESENTA LOS VALORES DE TSH NORMALES, **BASALES** Y POST **INYECCIÓN** I.V. DE **0,2 mg** DE TRH. **◆—◆** PERROS TESTIGOS. VALORES DE REFERENCIA DE TSHb; **TSH15m** EXPRESADOS EN PROMEDIO \pm 2DS (n=25). **●—●** PERROS CON TIROIDITIS **AUTOINMUNE** (n=15). **■- -■** PERROS SIN TIROIDITIS **AUTOINMUNE** Y CON **HIPERRESPUESTA** AL TRH (n=3).

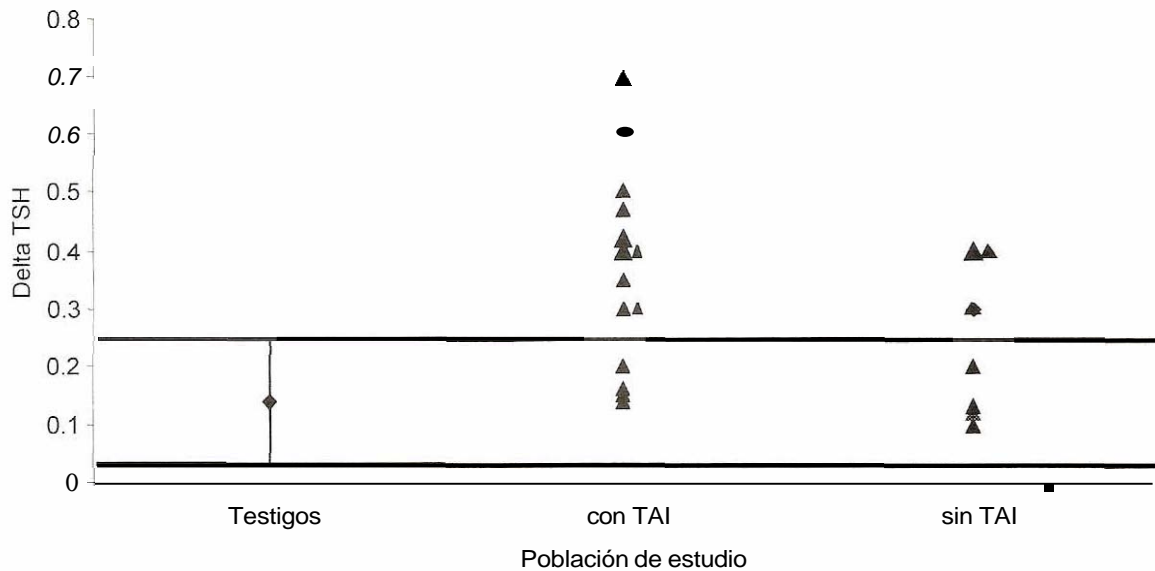


FIGURA 2. DELTA TSH EN PERROS EUTIROIDEOS, HIPOTIROIDEOS **SUBCLÍNICOS** CON TIROIDITIS **AUTOINMUNE(TAI)**.EUTIROIDEOS CON TAI E HIPOTIROIDEOS **SUBCLÍNICOS** SIN TAI. EL **ÁREA** EN RECUADRO REPRESENTA EL RANGO NORMAL DEL DELTA TSH, EXPRESADO EN PROMEDIO \pm 2DS, n= 25. CADA **TRIÁNGULO** REPRESENTA UN PERRO, SIENDO n=15 CON TAI (4 EUTIROIDEOS) Y n=10 SIN TAI (TRES HIPOTIROIDEOS **SBCLÍNICOS**).

Es de destacar que 11 de 15 caninos con TAI presentaron un ATSH >3 , al contrario de lo sucedido con aquellos con AcTg $<160\%$, donde sólo 3 presentaron hiperrespuesta, FIGS. 1 y 2, pudiendo ser su origen debido a una atrofia idiopática de la glándula o defectos en la organificación del yodo [3, 12].

La explicación de este fenómeno se debe a que comienza a afectarse, especialmente en los individuos con TAI, la

producción y secreción de hormonas tiroideas. Este leve descenso es captado por la hipófisis, generando una mayor sensibilidad de los receptores de células tiroideas al TRH e incrementando la producción de TSH. De esta forma se logra mantener el estado de eutiroidismo clínico [8, 16]. En los animales sin TAI y normorrespuesta al TRH y ATSH $< 2,5$, el hecho que sus niveles hormonales estén en los valores límites, puede ser atribuido al ritmo circadiano de la TSH [8, 19]. Los afectados por TAI, pero con normorrespuesta a la prueba, la producción

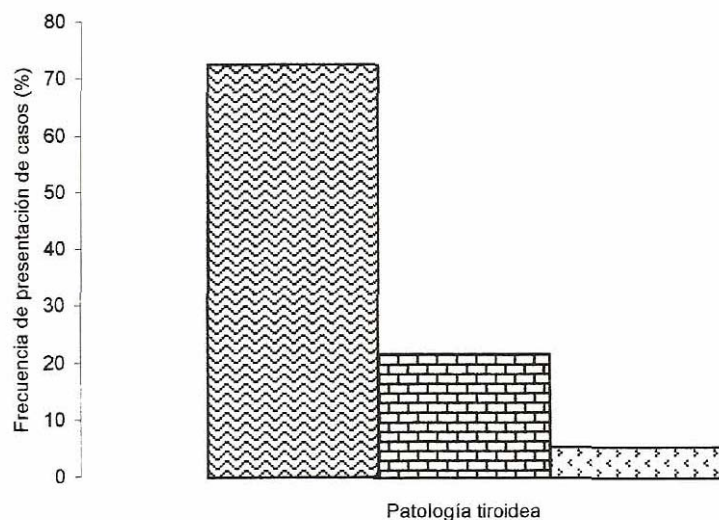


FIGURA 3. FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE LA **PATOLOGÍA TIROIDEA** EN EL PERRO SEGÚN LA **CONCENTRACIÓN DE TSH. T4L. AcTg** HALLADOS Y LA RESPUESTA AL ESTIMULO CON TRH, EL TOTAL DE PERROS ESTUDIADOS FUE DE 80, DE LOS CUALES 73 PRESENTARON **PATOLOGÍA TIROIDEA. HIPOTIROIDISMO CLÍNICO n= 53; HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO n= 16** (INCLUYE DOS PERROS CON **HIPOTIROIDISMO DE II° ESTADIO**); **EUTIROIDES CON TAI n= 4; EUTIROIDES SIN PATOLOGÍA TIROIDEA n=7. PORCENTAJE DE CASOS RESPECTO A 73 PERROS CON PATOLOGÍA TIROIDEA.**

de T_4 aún no está afectada, lográndose mantener el eje tiroideo regulado. Es de esperar que éstos perros evolucionen con el tiempo hacia el hipotiroidismo, conforme se afecte la funcionalidad glandular por causa de los anticuerpos, y progrese la agresión linfocítica sobre el tejido tiroideo. Por este motivo, es que se debe considerar a la población con enfermedad tiroidea autoinmune altamente sospechosa de padecer hipotiroidismo.

El HoS (estadios I y II), se presentó con una frecuencia del 21,9% del total de casos de perros con diagnóstico de hipotiroidismo ($n = 73$), siendo importante su incidencia, en tanto que hay un 5,47% de pacientes con TAI eutiroides a los cuales debe seguirse su evolución, FIG. 3. Estos datos indican la importancia de realizar la estimulación con TRH, de lo contrario quedarían sin diagnóstico casi una cuarta parte de los perros con enfermedad tiroidea.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se concluye que la prueba de estimulación con TRH o de respuesta de la TSH al TRH calculando el ATSH es fundamental para el diagnóstico del HoS subclínico de II estadio en el perro. Es importante debido a la frecuencia de presentación de casos subclínicos (21,9%), haciendo altamente relevante esta prueba.

Se recomienda que ante sospecha de Ho se solicite TSH, T_4 (total o libre, de preferencia ésta última fracción por su mayor sensibilidad diagnóstica) y AcTg. En los casos de TAI con hormonas normales o en aquellos sin TAI pero con concentraciones límites de TSH y T_4 , se debe realizar la prueba de respuesta al TRH con el fin de arribar al diagnóstico definitivo, implementando el tratamiento indicado.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a "Ferring Pharmaceuticals" por haber suministrado las ampollas de TRH, sin lo cual no se hubiera podido realizar el estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABALOVICH, M. Prueba de respuesta de la TSH al TRH en sujetos normales. *Rev. Arg. Endocrinol. Metab.* 34 (4): 230-250. 1997.
- [2] BASTENIE, P.; BONNYS, M.; VANHAELST, L. Grades of subclinical hypothyroidism in asymptomatic autoimmune thyroiditis revealed by the thyrotropin-releasing hormone test. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51 (1): 163-166. 1980.
- [3] BELSHAW, B. Enfermedad tiroidea. In: Ettinger, S. (Ed), Tratado de Medicina Interna Veterinaria. 2ª ed. Inter-médica, Buenos Aires. Argentina, cap. 67: 1494-1500. 1989.
- [4] BOHNEY, H.; FIEDLER, K.; LEIDENBERGER, F. Sub-clinical hypothyroidism and infertility. *Lancet*, Dec 5: 1278 pp. 1981.
- [5] GAUNA, A.; JUVENAL, G.; SCHNITMAN, M. ¿Qué es el hipotiroidismo subclínico?. *Rev. Arg. Endocrinol. Metab.* 32 (3): 157-173. 1995.
- [6] GRAHAM, P.; NACHREINER, R.; REFSAL, K. The measurement of canine thyroglobulin autoantibodies for the diagnosis of lymphocytic thyroiditis. *British Small*

- Animals Veterinary Association Congress. Abstracts, Abst of Congress in CD (InfoDisk 99), Birmingham, UK. 1997.
- [7] HERRERA, J; SARTORIO, G.; SOTO, R. Variaciones de la función tiroidea expresadas por el cálculo del área bajo la curva de TRH-TSH. Medicina (Bs. As) 47 (4): 464-470. 1987.
- [8] LARSEN, P. Thyroid- pituitary interaction: feed-back regulation of thyrotropin secretion by thyroid hormones. New Engl J. Med. 306 (1): 23-33. 1982.
- [9] MÁRQUEZ, A; RODRÍGUEZ, M.; CASTILLO, V. Función tiroidea en el canino: estimulación con TRH. XV Congresso Brasileiro da ANCLIVEPA, Abs 137, Rio de Janeiro, Brasil. 1993.
- [10] NIEPOMNISZCE, H; GONZÁLEZ, E.; PERALTA, A. Criterio de normalidad en las pruebas de TRH-TSH con picos de respuesta bajos. Rev. Arg. Endocrinol. Metab. 20 (1): 34-40. 1983
- [11] NIEPOMNISZCE, H; STRINGA de MUZZIO, I; FERREIRO, L. La prueba de TRH-TSH. ¿Cuándo sí y cuándo no?. Rev. Arg. Endocrinol. Metab. 31 (2): 79-84. 1994
- [12] PANCIERA, D. Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). J. Am. Vet. Med. Assoc. 204 (3): 761-767. 1994.
- [13] PETERSON, M. Diagnosis of thyroid disease in dogs and cats. XIX World Congress of WSAVA, Durban, Sud Africa: 299 – 305. 1994.
- [14] RAMSEY, I.K.; EVANS, H.; HERRTAGE, M. Thyroid stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. J. Small An. Prac. 38 (12): 540-545. 1997.
- [15] RAMSEY, I.K.; EVANS, H.; HERRTAGE, M. The effect of thyroid realising hormone on thyroid stimuiating hormone concentrations in euthyroid, hypothyroid and hypemadrenocorticoid dogs. British Smalls Animals Veterinary Association Congress. Abstracts, Abst of Congress in CD (InfoDisk 99), Birmingham, UK. 1998.
- [16] SCHNITMAN, M.; GURFINKEL, M.; DAMILANO, S.; BELMA, S.; SINAY, I.; PISAREV, M. Utilidad diagnóstica de la TSH ultrasensible versus la prueba de TRH-TSH. Rev. Arg. Endocrinol. Metab. 28 (3): 111-115. 1991.
- [17] SPARKES, A.; GRUFFYDD-JONES, P.; WOTTON, A.; GLEADHILL, A.; EVANS, H.; WALKER, M. Assessment of dose and time responses to, in healthy dogs. J. Small An. Prac. 36 (6): 245-251. 1995.
- [18] SUSTARCIC, D. An immunoradiometric assay for canine thyroid stimulating hormone. Clinical Chemistry. 41 (6): 569-575. 1995.
- [19] TOFT. A. D. Thyrotropin: Assay, Secretary Physiology and Testing of Regulation. In: Braverman, LE & Utiger, RD (Ed), The Thyroid. J.B. Lippincoti Co., Philadelphia, USA: 287 pp. 1991.