

Alta frecuencia de anticuerpos anti-tiroperoxidasa (ATPO) positivos en sujetos adultos, sin patología tiroidea conocida, de Santiago de Chile

ALEJANDRA LANAS¹, CAROLINA LETELIER¹, EGARDO CAAMAÑO^{2a}, TERESA MASSARDO³, PATRICIO GONZÁLEZ³, A. VERÓNICA ARAYA¹

Frequency of positive anti thyroid peroxidase antibody titers among normal individuals

Background: Anti-thyroid peroxidase antibodies have a pathogenic role in Hashimoto thyroiditis. Between 10 and 19% of individuals without thyroid disease have positive titers of these antibodies. **Aim:** To study the frequency of positive titers of anti-thyroid peroxidase antibodies in healthy individuals. **Material and Methods:** A blood sample, to measure anti-thyroid peroxidase antibodies and thyroid stimulating hormone (TSH) by chemoluminescence assay, was obtained from 67 women and 62 men aged 45 ± 14 years, without a personal or familial history of thyroid diseases and normal thyroid palpation. The cutoff point of the manufacturer to consider positive a titer of anti-thyroid peroxidase antibodies was set at 35 IU/ml. **Results:** Twenty eight women and 28 men had positive antibody titers (43% of the sample). Subjects in the upper tercile of anti-thyroid peroxidase antibody titers had a higher TSH than those in the second tercile, although within normal limits (1.73 ± 0.74 and 1.37 ± 0.59 mIU/L, respectively $p = 0.02$). **Conclusions:** Forty three percent of the studied subjects without personal or familial history of thyroid diseases, had positive titers of anti-thyroid peroxidase antibodies. Further prospective studies should evaluate whether this observation discloses an increase in thyroid autoimmune disease in a population with increased iodine intake.

(Rev Med Chile 2010; 138: 15-21).

(**Key words:** Antibodies; Thyroid gland; Thyroid peroxidase).

¹Sección de Endocrinología, Departamento de Medicina Interna.

²Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción.

³Centro de Medicina Nuclear, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Santiago de Chile.

^aTecnólogo Médico.

Trabajo Financiado por: Proyecto Organización Internacional de Energía Atómica. Universidad de Chile. [3000-7].

Recibido el 19 de agosto de 2009, aceptado el 14 de diciembre de 2009.

Correspondencia:

Dra. Verónica Araya Q.

Sección de Endocrinología

Hospital Clínico de la

Universidad de Chile

Santos Dumont 999

Independencia-Santiago

Chile

Fax: 56-2-777-6891

E-mail:

varaya@redclinicauchile.cl

Luego de la instauración de la yodación obligatoria de la sal en la gran mayoría de los países del mundo, incluyendo al nuestro, la prevalencia de bocio endémico ha disminuido significativamente^{1,2} contrastando con el aumento en la prevalencia de la patología tiroidea de etiología autoinmune. En una revisión de la literatura sobre esta patología publicada recientemente, se describe una incidencia de hipotiroidismo en mujeres de 350/100.000 y en hombres de 80/100.000 por año, siendo mucho menor la encontrada para el hipertiroidismo, con una incidencia en mujeres de

80/100.000 y en hombres de 8/100.000 por año³. Estos resultados son similares a los reportados por Vanderpump en un seguimiento a 20 años de población americana⁴.

Los anticuerpos antitiroideos representan una importante herramienta en el diagnóstico de la patología tiroidea autoinmune. Los implicados en este tipo de enfermedades son: anticuerpos anti-tiroglobulina (ATg), anti-tiroperoxidasa (ATPO) y anti-receptor de TSH (TRAb)^{5,6}. En la tiroiditis de Hashimoto, que es la patología tiroidea autoinmune de mayor prevalencia, el

marcador más específico son los ATPO, encontrándose presentes en más de 90 % de los casos⁶⁻⁸. Estos auto-anticuerpos están dirigidos contra la enzima peroxidasa mitocondrial de la glándula tiroides⁹. Esta enzima cumple una función importante catalizando la yodación de la tirosina en la tiroglobulina durante la síntesis de T₃ y T₄. Son anticuerpos citotóxicos y, por lo tanto, son responsables del daño directo de la glándula^{5-7,10,11}. Se ha descrito una fuerte asociación entre ATPO positivos y un volumen tiroideo aumentado en sujetos con TSH elevada¹². En el hipotiroidismo subclínico, se ha descrito la importancia de estos anticuerpos en la patogenia y progresión de la enfermedad, siendo su positividad uno de los criterios para iniciar terapia con tiroxina. Un nivel elevado de ATPO confiere un riesgo de 2,1% anual de desarrollar hipotiroidismo, 18 veces mayor que el de la población normal¹³. En la enfermedad de Graves, los TRAb son los marcadores específicos. Los ATPO se encuentran presentes en 75% de estos pacientes, y sus niveles descienden luego del tratamiento con drogas anti-tiroideas⁸.

Las técnicas de laboratorio disponibles en la actualidad son más sensibles para detectar la presencia de estos anticuerpos, lo que probablemente ha influido en el aumento de la prevalencia de ATPO positivos descrito en diferentes publicaciones. En el estudio poblacional realizado en Estados Unidos de Norteamérica, la prevalencia de ATPO positivos fue 13% y al incluir sólo a sujetos sin patología tiroidea fue 11,3%¹¹. Se encontraron presentes con mayor frecuencia en mujeres, en sujetos de mayor edad y se correlacionaron en forma directa con los valores de TSH¹¹. Otro trabajo mostró una prevalencia de 18,8% de ATPO o ATg en la población general¹⁴. En nuestro país se comunicó la presencia de ATPO en 9,8% de los pacientes que acudían a un control de salud en la ciudad de Santiago¹⁵, siendo esta cifra algo menor a lo descrito en la literatura internacional^{11,14}. Al analizar la prevalencia de ATPO en zonas de déficit y exceso de yodo algunos autores no encontraron diferencias significativas¹⁶.

El objetivo de este estudio fue conocer la frecuencia de ATPO positivos en individuos sin patología tiroidea de la ciudad de Santiago de Chile, participantes del estudio de valores normales de captación de ¹³¹Yodo realizado por nuestro grupo¹⁷. Además se buscó la asociación de los títulos de anticuerpos con los niveles de TSH y

con otras variables como edad, índice de masa corporal (IMC), sintomatología de disfunción tiroidea, cuadro depresivo y palpación anormal de la glándula tiroides.

Pacientes y Método

Se realizó un estudio observacional de corte trasversal. Se reclutó a voluntarios de ambos sexos, mayores de 18 años. La muestra correspondió a población de clase media, elegida al azar en centros universitarios y reparticiones de la zona norte de la ciudad de Santiago. Se excluyó a aquellos sujetos con antecedentes personales o de familiares directos de patología tiroidea, antecedentes de aumento de volumen o dolor cervical anterior, ingesta de hormonas tiroideas, utilización reciente de medios de contraste yodados o de medicamentos que alteren la fisiología tiroidea, embarazadas, puérperas o mujeres en lactancia, aquellos con índice de masa corporal (IMC) inferior a 20 o superior a 35 kg/m² o con patologías crónicas: renal, hepática o neoplásica.

A todos se les realizó anamnesis, examen físico completo y toma de muestra de sangre venosa para medición de TSH y ATPO. En la anamnesis se interrogó en forma dirigida acerca de la presencia de síntomas clásicos de hipo e hipertiroidismo, aplicando cuestionario tipo de síntomas clásicos. Se consideró cuadro clínico sugerente, la presencia de dos o más síntomas. Además se interrogó acerca de antecedentes de terapia o síntomas actuales de depresión.

La palpación de la glándula tiroides fue realizada por dos examinadoras calificadas y se clasificó como normal o, anormal si esta se encontraba aumentada de tamaño, de consistencia o con alteraciones en su superficie.

Este estudio contó con la aprobación del comité de ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y todos los participantes firmaron un consentimiento informado.

Para la determinación de los ATPO se utilizó un ensayo inmunométrico de quimioluminiscencia automatizado para equipo Immulite (DPC)¹⁸. Las muestras de suero fueron diluidas 1:101, en 1000 µl de un *buffer* matriz con conservante libre de anti-TPO, para eliminar la posible interferencia derivada de anticuerpos heterofílicos, que podrían estar presentes en el suero humano. El

valor mínimo detectable de esta técnica es 10 UI/ml y el superior es 1.000 UI/ml, con un coeficiente de variación interensayo cercano a 10%; el valor considerado positivo para esta técnica es mayor a 35 UI/ml.

Para la determinación de TSH también se utilizó la técnica de quimioluminiscencia Immulite (DPC). La sensibilidad de este ensayo es 0,004 mUI/L y el valor máximo leído es 75 mUI/L. El rango normal propuesto por el fabricante es de 0,4-4,0 mUI/L con un coeficiente de variación interensayo de 10%.

Estadística: Para el análisis estadístico se utilizó el programa computacional Stata. Se realizó cálculo de medianas y promedios con sus respectivas desviaciones estándar (DS) para variables continuas. Para variables dicotómicas se utilizaron las pruebas de Chi cuadrado y prueba exacta de Fisher. Para las comparaciones entre grupos se utilizaron los tests: t-Student y Mann Whitney y para comparaciones múltiples se utilizó la prueba de Kruskal Wallis. Se consideró significativo un $p < 0,05$.

Resultados

Se reclutó a 144 voluntarios chilenos, residentes en la ciudad de Santiago, distribuidos en forma homogénea por década de edad. Se excluyó a 15

de ellos por las siguientes razones: 6 por palpación tiroidea anormal, 2 por presentar TSH bajo el rango normal y 7 por presentar TSH sobre el rango normal.

La muestra estudiada estuvo compuesta por 129 sujetos, 62 hombres (48%) y 67 mujeres (52%), edad promedio $45,2 \pm 14,4$ años (rango 19 a 76). El valor promedio de TSH fue $1,54 \pm 0,73$ mUI/L (rango = 0,43-3,87). En 35,6% ($n = 46$) de los sujetos se encontró sobrepeso y en 17% ($n = 22$), obesidad. Diecisiete por ciento de los casos ($n = 22$) tenía hipertensión arterial. Las características por sexo de los sujetos se presentan en la Tabla 1. No se encontró diferencia significativa entre hombres y mujeres para los parámetros evaluados, excepto que la proporción de mujeres con síntomas de hipotiroidismo fue significativamente mayor con 29,8% vs 12,9% en los hombres ($p = 0,0034$).

Cincuenta y seis sujetos (43,4%), 28 hombres y 28 mujeres, presentaron un título de ATPO positivo o sea, por sobre 35 UI/ml. La media fue $63,5 \pm 94,1$ UI/ml (rango: 10-660). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la edad, IMC y TSH entre los casos con ATPO positivo o negativo (Tabla 2).

Al dividir los valores de ATPO en terciles y comparar los niveles de TSH en cada uno, encontramos una diferencia estadísticamente significa-

Tabla 1. Características generales y por sexo de 129 sujetos adultos de la ciudad de Santiago sin patología tiroidea conocida

	Total	Hombres	Mujeres	p
	n = 129	n = 62	n = 67	
Edad (años)	$45,2 \pm 14,4$	$46,4 \pm 14,6$	$44,1 \pm 14,2$	NS
IMC (kg/m ²)	$26,3 \pm 3,7$	$26,7 \pm 3,6$	$25,8 \pm 3,7$	NS
Sobrepeso (% (n))	35,6 (46)	32,2 (20)	38,8 (26)	NS
Obesidad (% (n))	17 (22)	20,9 (13)	13,4 (9)	NS
Síntomas de hipertiroidismo* (% (n))	27,1 (35)	25,8 (16)	28,3 (19)	NS
Síntomas de hipotiroidismo** (% (n))	21,7 (28)	12,9 (8) ^α	29,8 (20) ^α	0,0034
Síntomas de depresión*** (% (n))	12,4 (16)	9,7 (6)	14,9 (10)	NS
HTA (% (n))	17 (22)	19,3 (12)	14,9 (10)	NS
TSH (mUI/L)	$1,54 \pm 0,73$	$1,55 \pm 0,77$	$1,53 \pm 0,7$	NS
ATPO (UI/ml) (% positivos)	$63,5 \pm 94,1$ (43,4)	$53,8 \pm 59,3$ (45,2)	$72,5 \pm 117,4$ (41,8)	NS

^αDiferencia estadísticamente significativa. NS: No significativo. *Presencia de dos o más síntomas. ** Presencia de dos o más síntomas. ***Según los criterios de DSM IV.

Tabla 2. Características generales de los pacientes ATPO positivos (>35 mUI/dl) y ATPO negativos

	ATPO positivos	ATPO negativos	p
	n = 56	n = 73	
Mujeres (% (n))	50 (28)	53,4 (39)	NA
Hombres (% (n))	50 (28)	46,6 (34)	NA
Edad, años (Promedio ± DE)	44,8 ± 14,2	45,6 ± 14,6	NS
IMC (Promedio ± DE)	26,2 ± 4	26,3 ± 3,4	NS
Sobrepeso (% (n))	30,3 (17)	39,7 (29)	NS
Obesidad (% (n))	19,6 (11)	15,1 (11)	NS
Síntomas de hipertiroidismo (% (n))*	39,3 (22) ^α	17,8 (13) ^α	0,001
Síntomas de hipotiroidismo (% (n))**	28,6 (16)	16,4 (12)	0,05
Síntomas de depresión (% (n))***	19,6 (11) ^α	6,8 (5) ^α	0,02
TSH (mUI/L)	1,64 ± 0,73	1,45 ± 0,73	NS

^αDiferencia estadísticamente significativa. NA: No aplicable, NS: No significativo. *Presencia de dos o más síntomas. **Presencia de dos o más síntomas. ***Según los criterios de DSM IV.

tiva entre el segundo y el tercer tercil, $1,37 \pm 0,58$ vs $1,73 \pm 0,74$ mUI/L ($p = 0,02$), sin diferencia con el primer tercil, $1,52 \pm 0,82$ mUI/L (Figura 1).

Con respecto a la presencia de síntomas, 16 casos ATPO positivo (28,6%) refirieron dos o más síntomas sugerentes de hipotiroidismo pero, con un valor de T4 normal. No hubo diferencia estadística con respecto a los con ATPO negativo.

En cambio, la proporción de individuos ATPO positivo que presentaron dos o más síntomas de hipertiroidismo fue significativamente mayor que en los ATPO negativo, 39,3% vs 17,8% ($p = 0,001$). Ninguno de ellos tuvo un nivel de T4 aumentado. Además, hubo diferencia estadística entre los ATPO positivo y negativo para la presencia de síntomas depresivos o tratamiento antidepresivo, 19,6% vs 6,8% ($p = 0,02$).

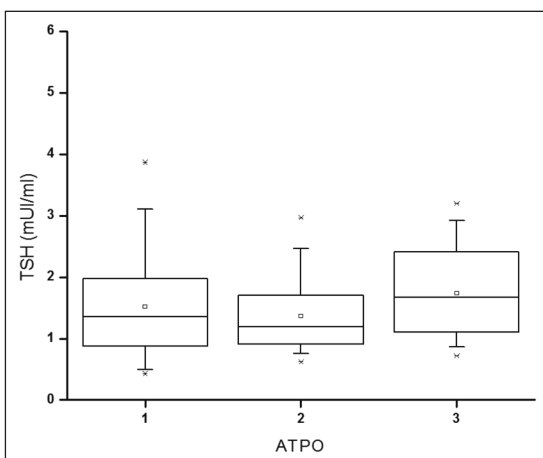


Figura 1. Se muestra la distribución de los niveles de TSH por terciles de títulos de ATPO en 129 sujetos adultos sin patología tiroidea conocida. Se observa una diferencia significativa entre tercil 2 y tercil 3 ($p = 0,02$).

Discusión

La presencia de ATPO sobre el límite de detección de los métodos de laboratorio puede observarse en gran parte de la población general pero, en la mayoría de los casos, no tienen significado patológico¹⁹.

En nuestra muestra, 43,4% de los casos estudiados presentó ATPO positivo considerando el valor de corte del fabricante (35 UI/ml). Este porcentaje es considerablemente mayor a los publicados por otros autores en el extranjero y en nuestro país, los que fluctúan entre 9,8% y 18,8%^{11,14,15}. Esto puede explicarse por diferencias en la sensibilidad de los métodos utilizados para la determinación de los ATPO o porque el valor de corte que discrimina entre positivo y negativo, es obtenido en otras poblaciones con características diferentes a la nuestra, las que no necesariamente han sido bien

especificadas. Por otra parte, aunque aplicamos estrictos criterios de exclusión para sujetos con antecedentes personales y familiares de algún problema tiroideo, tiroides alterado a la palpación o TSH fuera del rango normal, no podemos descartar un sesgo de selección al no corresponder a un muestreo aleatorio. Sin embargo, estos resultados pueden evidenciar un aumento real de la prevalencia de la patología tiroidea autoinmune en nuestra población, hecho que aún no ha sido bien evaluado en estudios prospectivos.

Aunque no observamos diferencias en los valores promedio de TSH entre el grupo con ATPO positivo y los con ATPO negativo, los sujetos del tercil superior para ATPO tuvieron un nivel de TSH que fue significativamente mayor que los del tercil inmediatamente inferior, lo que coincide con lo descrito en otros estudios en que mayores títulos de ATPO se asocian con niveles de TSH más altos¹¹.

En cuanto a la relación de ATPO positivo y síntomas de hipotiroidismo, no se encontraron diferencias significativas pero, la presencia de síntomas de hipertiroidismo fue significativamente más frecuente en aquellas personas con ATPO positivo. En cambio, los síntomas de hipotiroidismo fueron significativamente más frecuentes en mujeres. Se debe considerar que todos estos síntomas son inespecíficos y no se correlacionaron con los niveles de T4 libre o TSH y tampoco tenían captación de ¹³¹Yodo alterada¹⁷. Esta observación, avala la subjetividad de este parámetro en la evaluación de una posible disfunción tiroidea, basado en la percepción de los sujetos.

En cuanto al análisis por sexo, el título promedio de ATPO fue similar en hombres y mujeres, y tampoco hubo diferencias significativas para la distribución por sexo entre los casos ATPO positivo y negativo, lo cual difiere de lo presentado en la literatura de una mayor frecuencia de ATPO positivo en mujeres¹¹. Consideramos que nuestra muestra fue homogénea en cuanto al número de sujetos por sexo y edad, por lo que nuestros resultados apuntarían a un aumento de la frecuencia de autoinmunidad también en nuestra población masculina. Este aumento de los títulos de anticuerpos podría estar relacionado con el aumento de la ingestión de yodo por la suplementación en la sal como profilaxis de la patología tiroidea por deficiencia de yodo²⁰. En modelos animales susceptibles de desarrollar patología autoinmune, se ha demostrado un aumento de la infiltración

linfocítica y de tiroiditis dependiente de la dosis de yodo ingerida²¹. Muzzo et al han demostrado en población escolar chilena una elevada excreción urinaria de yodo²². Series europeas y sudamericanas han demostrado un incremento de los títulos de anticuerpos antitiroideos, tiroiditis crónica demostrada por ecografía o histología y también de cáncer diferenciado de tiroides²³⁻²⁶. Otros autores han demostrado que en pacientes con hipotiroidismo subclínico, una mayor excreción urinaria de yodo se relaciona con un aumento más precoz de la TSH y de los anti-TPO²⁷. En nuestros casos, no contamos con la medición de excreción urinaria de yodo ni con estudio ecográfico para evaluar la presencia de alteraciones estructurales del tiroides. Recientemente, se han publicado dos estudios realizados en poblaciones europeas, en los que se plantea que otros factores ambientales podrían contribuir al desarrollo de autoinmunidad tiroidea. El cese de fumar favorecería la aparición de anti-TPO y antitiroglobulina en mujeres adultas con antecedentes familiares de patología tiroidea autoinmune²⁸. En otro estudio realizado en población escolar, las condiciones socioeconómicas desfavorables y exposición a agentes microbianos, podrían actuar como protectores para la aparición de anticuerpos antitiroideos²⁹. Nuestros sujetos fueron todos adultos de nivel socioeconómico medio y, aunque se reclutaron en un área específica de la ciudad, provenían de diferentes zonas de Santiago. Tampoco evaluamos dirigidamente el hábito de fumar. Por lo tanto, sería necesario realizar evaluaciones en diferentes estratos socioeconómicos y zonas del país para demostrar la influencia de estos factores.

En suma, encontramos una alta frecuencia de ATPO positivos en una muestra de la población de Santiago de Chile, sin diferencias por edad o sexo, la que fue mayor a la encontrada en otras poblaciones, incluyendo estudios previos en nuestro país. Aunque esto podría corresponder a un sobre diagnóstico por los niveles de corte utilizados por algunos de los métodos de detección de ATPO actualmente en uso, no podemos descartar que esto se deba a un aumento real de la prevalencia de la patología tiroidea autoinmune en una población con ingesta suficiente de yodo, lo que se deberá evaluar realizando un estudio prospectivo.

Agradecimientos: Agradecemos al Sr. Gabriel Cavada por su apoyo en el análisis estadístico.

Referencias

1. Tellez R, Michaud P. Prevalencia de bocio en escolares de la zona de Pirque. Efectos de la yodación de la sal. *Rev Med Chile* 1996; 124: 1207-10.
2. Muzzo S, Burgueño M, Carvajal F, Moreno R, Leiva L. Características actuales del bocio endémico en tres zonas censoras de Chile. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 1994; 44: 82-6.
3. McGrogan A, Seaman HE, Wright JW, De Vries Cs. The incidence of autoimmune thyroid disease: a systematic review of the literature. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008; 69: 687-96.
4. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43: 55-68
5. Rees Smith B. Thyroid autoantibodies. *Scan J Clin Lab Invest* 2001; 61 (Suppl 235); 45-52.
6. Saravanan P, Dayan CM. **Thyroid autoantibodies**. *Endocrinol Met Clin North Am* 2001; 30: 315-37.
7. Charades T, Chapal N, Bresson D, Bes C, Giudicelli V, Lefranc MP, et al. The human anti-thyroid peroxidase autoantibody repertoire in Graves and Hashimoto's autoimmune thyroid diseases. *Inmunogenetics* 2002; 54: 141-57.
8. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 661-9.
9. McLachlan SM, Rapaport B. Autoimmune Response to the Thyroid in Humans: Thyroid Peroxidase – The Common Autoantigenic Denominator. *Inter Rev Immunol* 2000; 19: 587-618.
10. Fardella C. Epidemiología de los trastornos tiroideos en Chile. *Boletín tiroideo* 2000; 29.
11. Hollowell Jg, Staehling Nw, Hannon Wh, Flanders Wd, Gunter Ew, Spencer CA, et al. Serum thyrotropin, thyroxine, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 489-49.
12. Bülow Pedersen I, Laurberg P, Knudsen N, Jørgensen T, Perrild H, Ovesen L, et al. A population study of the association between thyroid autoantibodies in serum and abnormalities in thyroid function and structure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62: 713-20.
13. Cooper DS. Clinical Practice. Subclinical hypothyroidism. *N Eng J Med* 2001; 345: 260-4.
14. Bülow Pedersen I, Knudsen N, Jørgensen T, Perrild H, Ovesen L, Lauberg P. Thyroid peroxidase and thyroglobulin auto-antibodies in a large survey of populations with mild and moderate iodine deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 58: 36-42.
15. Fardella C, Poggi H, Gloger S, Rojas A, Velasquez Cg, Barroileth S, et al. Alta prevalencia de enfermedad tiroidea subclínica en sujetos que concurren a un control de salud. *Rev Med Chile* 2001; 129: 155-160.
16. Li Y, Teng D, Shan Z, Teng X, Guan H, Yu X, et al. Antithyroid peroxidase and antithyroglobulin antibodies in a 5-year follow-up survey of populations with different iodine intakes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1751-1757.
17. González P, Carmona A, Araya Av, Miranda K, Massardo T, Jiménez B, et al. Valores normales de captación de ¹³¹Yodo de 2 y 24 horas. *Rev Med Chile* 2008; 136: 1288-93.
18. Bohuslavizki Kh, Vom Baur E, Weger B, Krebs C, Saller B, Wetlitzky O, et al. Evaluation of chemiluminescence immunoassays for detecting thyroglobulin (Tg) and thyroid peroxidase (TPO) autoantibodies using the IMMULITE 2000 system. *Clin Lab* 2000; 46: 23-31.
19. Zophel K, Saller B, Wunderlich G, Grüning T, Koch R, Wilde J, et al. Autoantibodies to thyroperoxidase (TPOAb) in a large population of euthyroid subjects: implications for the definition of TPOab reference intervals. *Clin Lab* 2003; 49: 591-600.
20. Pretell EA, Delange F, Hostalek U, Corigliano S, Barreda L, Higa AM, et al. Iodine nutrition improves in Latin America. *Thyroid* 2004; 14: 590-9.
21. Teng X, Shan Z, Teng W, Fan C, Wang H, Guo R. Experimental study on the effects of chronic iodine excess on thyroid function, structure, and autoimmunity in autoimmune-prone NOD.H-2h4 mice. *Clin Exp Med* 2009; 9: 51-9.
22. Muzzo S, Ramírez I, Carvajal F, Biolley E, Leiva L. Iodine nutrition in school children of four areas of Chile during the year 2001. *Rev Med Chile* 2003; 131: 1391-8.
23. Papanastasiou L, Vatalas Ia, Koutras Da, Mastorakos G. Thyroid Autoimmunity in the Current Iodine Environment. *Thyroid* 2007; 17: 729-39.
24. Duarte GC, Tomimori EK, DE Camargo RY, Catarino RM, Ferreira JE, Knobel M, et al. Excessive iodine intake and ultrasonographic thyroid abnormalities in school-children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009; 22: 327-34.
25. Camargo RY, Tomimori EK, Neves SC, GS Rubio I, Galvão Al, Knobel M, et al. Thyroid and the environment: exposure to excessive nutritional iodine increases the prevalence of thyroid disorders in Sao Paulo, Brazil. *Eur J Endocrinol* 2008; 159: 293-9.
26. Harach HR, Ceballos GA. Thyroid cancer, thyroiditis and dietary iodine: a review based on the Salta, Argentina model. *Endocr Pathol* 2008 Winter; 19: 209-20.

27. Karmisholt J, Laurberg P. Serum TSH and serum thyroid peroxidase antibody fluctuate in parallel and high urinary iodine excretion predicts subsequent thyroid failure in a 1-year study of patients with untreated subclinical hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 209-15.
28. Effraimidis G, Tijssen J, Wiersinga WM. Discontinuation of smoking increases the risk for developing thyroid peroxidase antibodies and/or thyroglobulin antibodies: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 1324-8.
29. Kondrashova A, Viskari H, Haapala Am, Seiskari T, Kulmala P, Ilonen J, et al. Serological evidence of thyroid autoimmunity among schoolchildren in two different socioeconomic environments. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 729-34.