

Freies Thyroxin im Serum: Bestimmung der FT₄-Fraktion mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers

H. Köhn

Nuklearmedizinisches Institut und Ludwig Boltzmann-Institut für Nuklearmedizin, Wilhelminenspital, Wien

Zusammenfassung:

Es wurde ein neuer Radioassay, der die FT₄-Fraktion quantitativ im Serum bestimmt und die FT₄-Konzentration aus dem Produkt von FT₄-Fraktion \times Gesamt-T₄ berechnet, sowohl bei unterschiedlichen Schilddrüsenfunktionszuständen als auch während der Schwangerschaft, bei schweren extrathyreoidalen Erkrankungen (NTI) sowie nach Heparintherapie auf seine diagnostische Aussagekraft hin untersucht.

Der neue Test liefert drei quantitative Parameter: FT₄-Fraktion, FT₄-Konzentration und Gesamt-T₄ und ist unabhängig von Albumininterferenzen, welche eine Fehlermöglichkeit bei Traceranalogmethoden darstellen. Der euthyreote Bereich wurde mit 0,6 bis 1,2 ng/dl ermittelt. Euthyreote waren gut von Hypo- oder Hyperthyreoten zu diskriminieren. In der Spätschwangerschaft fanden sich signifikant niedrigere FT₄-Konzentrationen, während bei NTI-Patienten normale bis supranormale Werte gemessen wurden. Nach Heparin stieg die FT₄-Konzentration deutlich an.

Der hier vorgestellte Radioassay korrelierte bei Patienten mit unterschiedlichen Schilddrüsenfunktionszuständen signifikant mit einem T₄/TBG-Quotienten und einem direkten Analog-FT₄-RIA ($r_s = 0,86$ bzw. $r_s = 0,82$, $p < 0,001$).

Die Ergebnisse des SPAC-FT₄ sind besonders bei Patienten mit schweren extrathyreoidalen Erkrankungen den aus der Literatur bekannten Ergebnissen der Gleichgewichtsdialyse besser vergleichbar als die mit einem Traceranalog-FT₄-RIA gemessenen Werte.

Schlüsselwörter:

FT₄-Radioassay – FT₄-Fraktion – monoklonaler Antikörper – Schwangerschaft – schwere extrathyreoidale Erkrankungen – Heparintherapie

Summary:

A new radioassay which measures the FT₄-fraction in serum and calculates the FT₄-concentration from the product of FT₄-fraction \times total-T₄ has been evaluated with respect to its diagnostic accuracy in different states of the thyroid as well as during pregnancy, in patients with nonthyroidal illnesses and after heparin therapy. The new test provides three quantitative parameters: FT₄-fraction, FT₄-concentration and total-T₄ and is not affected by albumin effects, which may cause erroneous results in tracer analog methods. The euthyroid range was 0.6 to 1.2 ng/dl. Euthyreoids could be well discriminated from hypo- or hyperthyroids. FT₄-concentrations were found to be significantly lower in the third trimester of pregnancy, but were normal to supranormal in NTI-patients. After heparin therapy, there was a significant increase of FT₄. In patients with different metabolic state of the thyroid, SPAC-FT₄ correlated significantly with both a T₄/TBG ratio and a direct analog-FT₄-RIA ($r_s = 0,86$ and $r_s = 0,82$, respectively, $p < 0,001$).

In patients with severe nonthyroidal illnesses, results obtained by the SPAC-FT₄ method are better comparable to those reported by equilibrium dialysis than are results measured by the analog-FT₄-RIA.

Keywords:

FT₄-radioassay – FT₄-fraction – monoclonal T₄-antibody – pregnancy – severe nonthyroidal illnesses – heparin therapy

Einleitung

Der überwiegende Teil des Gesamtthyroxins (TT₄) ist im Serum an Trägerproteine gebunden (> 99,9%), nur ein ganz geringer Prozentsatz liegt in freier Form (FT₄) vor. Da die freie Fraktion die eigentlich stoffwechselaktive Form darstellt, ist deren quantitative Bestimmung ein besserer Parameter zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion als das Gesamtthyroxin. Die Bestimmung der FT₄-Konzentration mit Hilfe der Gleichgewichtsdialyse ist

methodologisch aufwendig und hat sich wegen des hohen Zeit- und Arbeitsaufwandes in der klinischen Routine nicht durchsetzen können. Es wurden daher indirekte Methoden – sogenannte FT₄-Indizes – entwickelt, welche das FT₄ aus Gesamt-T₄ und einem uptake-Test ermitteln oder mit Hilfe eines T₄/TBG-Quotienten ein für das wichtigste Trägerprotein korrigiertes FT₄-Äquivalent berechnen.

Erst in den letzten Jahren wurden rasche und praktikable Radioimmunoassays zur Bestimmung der FT₄-Konzen-

tration im Serum entwickelt. Während diese Assays in der Regel gut Euthyreote von Hypo- oder Hyperthyreoten diskriminieren und auch einen TBG-Mangel oder -Überschuss auskorrigieren können, finden sich in Literaturberichten aus jüngster Zeit erhebliche Diskrepanzen zwischen diesen neuen Methoden, z. B. in der Spätschwangerschaft (1, 5), bei schweren extrathyreoidalen Erkrankungen (NTI) (2, 4, 6, 8) sowie nach Heparintherapie (3, 9–11). Ein relativ verbreiterter, eleganter und direkter, mit einem markierten T₄-Analog arbeitender RIA erwies sich als störanfällig für quantitative oder qualitative Änderungen der Albuminfaktion (2, 12) sowie für das Vorliegen von T₄-Autoantikörpern (7). Daher schien es von Interesse, einen neu entwickelten Radioassay, welcher quantitativ die FT₄-Fraktion (FT₄%) (d. h. das Verhältnis FT₄/Gesamt-T₄) bestimmt und aus dem Produkt von FT₄% × Gesamt-T₄ die FT₄-Konzentration berechnet, sowohl bei unterschiedlichen Schilddrüsenfunktionszuständen als auch während der Gravidität, bei NTI oder nach Heparintherapie auf seine diagnostische Aussagekraft hin zu untersuchen und die Ergebnisse mit denen eines direkten Analog-FT₄-RIA sowie eines T₄/TBG-Quotienten zu vergleichen.

Patientengut und Methodik

Das Prinzip dieser indirekten Methode beruht auf dem Massenwirkungsgesetz. In einem Radioassay (SPAC-FT₄, Byk-Mallinckrodt, Dietzenbach) wird die FT₄-Fraktion durch Zuschalten eines dritten Kompartments, welches aus einem monoklonalen Antikörper mit geringer Affinität jedoch definierter Bindungskapazität besteht, sowie eines T₄-Tracers mit hoher spezifischer Aktivität und eines Referenzserums mit bekannter (durch symmetrische Dialyse ermittelter) FT₄-Fraktion bestimmt.

Das Prinzip des Zweiröhrchen-RIA im Detail:

1. Die FT₄-Fraktion (FT₄%) ist definiert als das Verhältnis freies T₄ (FT₄) zu proteingebundenem T₄ (TT₄)

$$FT_4\% = \frac{FT_4}{TT_4}$$

2. Durch Zuschalten eines dritten Kompartments (= mit monoklonalem T₄-Antikörper beschichtetes SPAC-Röhrchen) ändert sich die FT₄-Fraktion nicht

$$FT_4\% = \frac{FT_4}{TT_4} = \frac{FT_4'}{TT_4'}$$

3. Die FT₄-Fraktion ist proportional dem Verhältnis aus antikörpergebundenem T₄ („Bound“) zu nicht antikörpergebundenem T₄ („Unbound“)

$$FT_4\% \sim \frac{\text{Bound}}{\text{Unbound}} \times \delta.$$

4. Der Proportionalitätsfaktor δ wird durch Vergleich mit einem Referenzserum, dessen FT₄-Fraktion mit der symmetrischen Dialyse bestimmt wurde und daher bekannt ist, ermittelt und es ergibt sich daraus

$$FT_4\% (\text{Probe}) = \frac{\text{Bound}/\text{Unbound} (\text{Probe})}{\text{Bound}/\text{Unbound} (\text{Referenz})} \times FT_4\% (\text{Referenz}).$$

5. Das Verhältnis Bound/Unbound wird durch Zugabe eines 125-I-Tracers hoher spezifischer Aktivität bestimmt.

6. Die Konzentration des freien T₄ (FT₄) errechnet sich aus dem Produkt von FT₄-Fraktion (FT₄%) × Gesamt-T₄

(TT₄) (Gesamt-T₄ wird in einem gesonderten SPAC-Röhrchen bestimmt)

$$FT_4 = FT_4\% \times TT_4.$$

Der Testansatz (Standards, Proben und Kontrollen) erfolgt für die Bestimmung der FT₄-Fraktion und des FT₄ bzw. des Gesamt-T₄ simultan in zwei Antikörper beschichteten Röhrchen. Die Inkubationszeit beträgt 2 Std. bei 37°C. Insgesamt ist daher der Zeitaufwand geringer als dies bei paralleler Bestimmung von FT₄ und TT₄ der Fall wäre. Die Auswertung erfordert ein spezielles Rechenprogramm, das vom Kit-Hersteller zur Verfügung gestellt wird. Bei der in dieser Studie verwendeten präkommersiellen Version kam für die Gesamt-T₄-Bestimmung anstelle des zukünftigen monoklonalen noch ein polyklonalen Antikörper zum Einsatz.

Mit dem neuen Radioassay wurden über 500 konsekutive Patienten aus unserer Schilddrüsenambulanz mit unterschiedlichen Schilddrüsenfunktionszuständen, das heißt mit Eu-, Hypo- und Hyperthyreose, mit TBG-Erhöhung und TBG-Erniedrigung, Patienten mit Schilddrüsenautonomie (autonome Adenome und disseminierte Autonomie) jedoch normalem Gesamt-T₄ und Gesamt-T₃ sowie Patienten unter T₄-Medikation untersucht. Die Diagnose wurde durch Szintigramme, Gesamt-T₄ (SPAC-T₄, Byk-Mallinckrodt, Normalbereich 4,7–12,7 µg/dl), Gesamt-T₃ (SPAC-T₃, Byk-Mallinckrodt, Normalbereich 80–206 ng/dl) bzw. basales TSH (RIAGnost-TSH, Behring-Hoechst, Normalbereich ≤ 6 µU/ml) oder TRH-Test und falls nötig durch Stimulations- oder Suppressionstests gesichert. Außerdem wurde bei 48 Patienten mit schwerer extrathyreoidaler Erkrankung („Non-thyroidal-illness“ oder „low-T₃-syndrome“ mit erhöhtem reverse-T₃ sowie normalem oder niedrigem Gesamt-T₄), ferner im Verlauf der Schwangerschaft sowie bei 11 Dialysepatienten nach 5000–10000 I.E. Heparin i.v. die FT₄-Konzentration im Serum bestimmt. Anhand von 100 nach verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen (Euthyreote mit und ohne Struma, Patienten unter Kontrazeptiva oder T₄-Medikation, Gravide im 3. Trimenon, Hypo- und Hyperthyreote sowie Patienten mit Schilddrüsen-Autonomie) ausgewählten Seren wurde der SPAC-FT₄-Radioassay mit einem direkten Analog-FT₄-RIA (Amerlex-FT₄, Amersham, Normalbereich 0,8–2,3 ng/ml) sowie einem T₄/TBG-Quotienten (Normalbereich 2,9–4,7; TBG: RIAGnost TBG, Behring-Hoechst, Normalbereich 12–35 µg/ml) verglichen.

Zum Vergleich unterschiedlicher „euthyreoter“ Patientengruppen (Gravide im 3. Trimenon, NTI-Patienten, Schilddrüsenautonomien mit normalen Gesamthormonkonzentrationen und Patienten unter T₄-Medikation) mit der euthyreoten Kontrollgruppe wurde eine Einweg-Varianzanalyse mit nachfolgenden multiplen Vergleichen nach Scheffé herangezogen. Für die Korrelation der beiden FT₄-Assays wurde eine parameterfreie Regression nach der Methode von Theil (13) gerechnet, außerdem wurde der Zusammenhang zwischen den FT₄-Assays bzw. dem T₄/TBG-Quotienten durch den Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten beurteilt.

Ergebnisse

Die Qualitätskontrolle des SPAC-FT₄ ergab für drei Kontrollseren (gepoolte Seren) unterschiedlicher Konzentration (hypo-, eu-, hyperthyreoter Bereich) Variationskoeffizienten zwischen 7–10% sowohl in der Serie als auch von Tag zu Tag.

Der euthyreote Bereich wurde mit 0,59–1,19 ng/dl (n = 133) ermittelt, wobei sich eine angenähert log normale Verteilung fand (Abb. 1). Die Abb. 2 und 3 zeigen die bei unterschiedlichen Schilddrüsenfunktionszuständen gemessenen FT₄-Konzentrationen bzw. FT₄-Fraktionen. In Tab. 1 sind die Mittelwerte ± SD sowie der Median und

Range der FT₄-Konzentration und FT₄-Fraktion bei unterschiedlichen „euthyreoten“ Patientengruppen (Gravide im 3. Trimenon, Patienten unter T₄-Medikation, Patienten mit Schilddrüsenautonomie und normalen Gesamthormonkonzentrationen sowie Patienten mit schweren extrathyreoidalen Erkrankungen) im Vergleich zu euthyreoten Kontrollpersonen dargestellt. Dabei fand sich in der Spätschwangerschaft sowohl eine signifikant niedrigere FT₄-Konzentration als auch FT₄-Fraktion, während bei Schilddrüsenautonomie und NTI signifikant höhere FT₄-Konzentrationen und FT₄-Fraktionen gefunden wurden. Patienten unter T₄-Medikation hatten wohl deutlich höhere FT₄-Konzentrationen, unterschieden sich jedoch nicht bezüglich der FT₄-Fraktion von euthyreoten Kontrollpersonen. In Tab. 2 sind die FT₄-Konzentrationen im Verlauf der Gravidität dargestellt, wobei die Werte in der Spätschwangerschaft signifikant niedriger liegen als zu Beginn der Gravidität bzw. bei euthyreoten Kontrollpersonen. Abb. 4 zeigt den Einfluß einer intravenösen Heparintherapie auf den SPAC-FT₄ im Vergleich zum Amerlex-FT₄. Während sich mit dem SPAC-FT₄ bereits 5 min nach Heparin i.v. ein maximaler Anstieg der FT₄-Konzentration um durchschnittlich 66% fand, ergab sich mit dem Amerlex-FT₄ ein Abfall um 44%. Der SPAC-FT₄ korrelierte hochsignifikant ($r_s = 0,82$, $p < 0,001$, $y = -0,047 + 0,759x$) mit dem Amerlex-FT₄ (Abb. 5) und einem T₄/TBG-Quotienten ($r_s = 0,86$, $p < 0,001$) (Abb. 6).

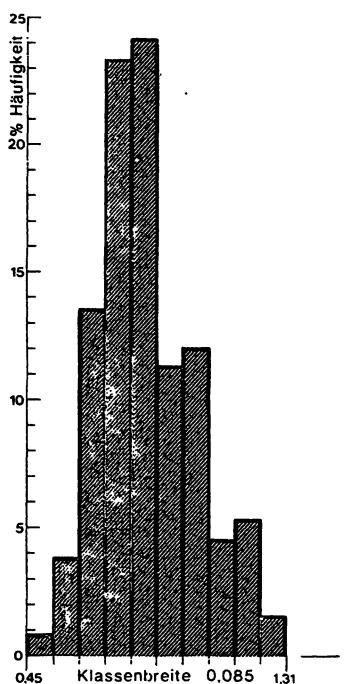


Abb. 1: Histogramm der FT₄-Konzentration bei Euthyreoten (n = 133, angenähert log normale Verteilung)

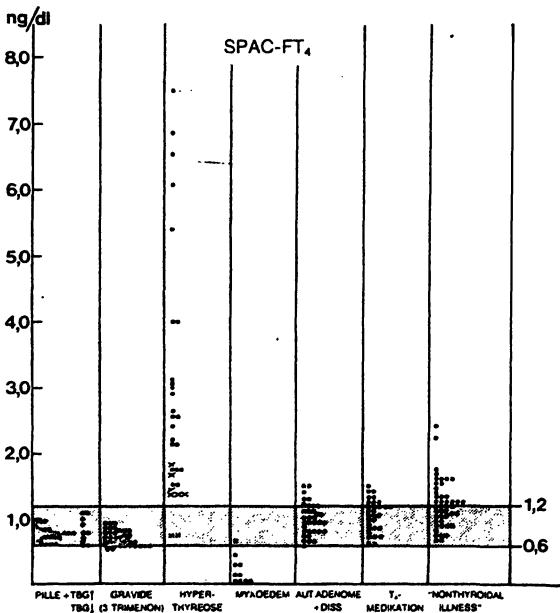


Abb. 2: FT₄-Werte bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen, in der Spätschwangerschaft und bei extrathyreoidalen Erkrankungen

Tab. 1: FT₄-Konzentration und FT₄-Fraktion (Mittelwert ± SD sowie Median und Range) in der Spätschwangerschaft, bei Patienten unter T₄-Medikation, mit Schilddrüsenautonomie sowie mit schweren extrathyreoidalen Erkrankungen im Vergleich zu Euthyreoten

| | FT ₄ (ng/dl) ($\bar{x} \pm SD$ m, range) | FT ₄ -Fraktion (%) ($\bar{x} \pm SD$ m, range) |
|--|--|--|
| Euthyreose (n = 133) | 0,85 ± 0,15 0,84 (0,54–1,31) | 0,012 ± 0,002 0,011 (0,008–0,016) |
| Gravide (3. Trim.) (n = 37) | 0,67 ± 0,15* 0,66 (0,42–0,94) | 0,007 ± 0,001* 0,007 (0,005–0,008) |
| T ₄ -Medikation (n = 33) | 1,15 ± 0,43* 1,14 (0,49–2,98) | 0,012 ± 0,002 0,012 (0,008–0,016) |
| SD-Autonomie (n = 42) | 1,08 ± 0,37* 1,00 (0,54–1,77) | 0,014 ± 0,003* 0,014 (0,009–0,019) |
| Nonthyroidal illness (n = 48) | 1,22 ± 0,37* 1,20 (0,59–2,43) | 0,019 ± 0,009* 0,017 (0,009–0,032) |

*) $p < 0,001$

Tab. 2: FT₄-Konzentration im Verlauf der Schwangerschaft

| Gravidität | FT ₄ (ng/dl) ($\bar{x} \pm SD$) |
|-----------------------|---|
| Euthyreose (n = 133) | 0,85 ± 0,15 |
| I Trimenon (n = 13) | 0,85 ± 0,19 |
| II Trimenon (n = 25) | 0,77 ± 0,11* |
| III Trimenon (n = 37) | 0,67 ± 0,15** |

*) $p < 0,02$

**) $p < 0,001$

FT₄ (%) - Fraktion

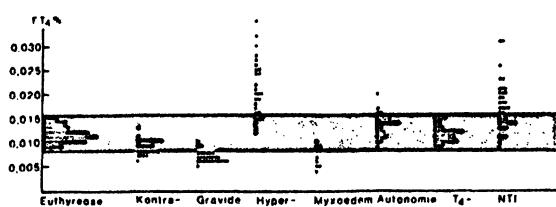


Abb. 3: FT₄-Fraktion bei verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen, in der Spätschwangerschaft und bei extrathyreoidalen Erkrankungen

HEPARIN-EFFECT
IN VIVO

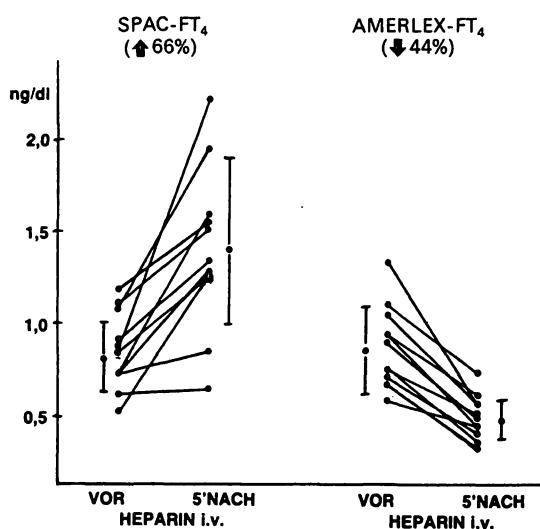


Abb. 4: Effekt von Heparin i.v. auf den SPAC-FT₄ bzw. den Amerlex-FT₄

T₄/TBG vs SPAC FT₄

(n = 100)

r_s = 0,86

p < 0,001

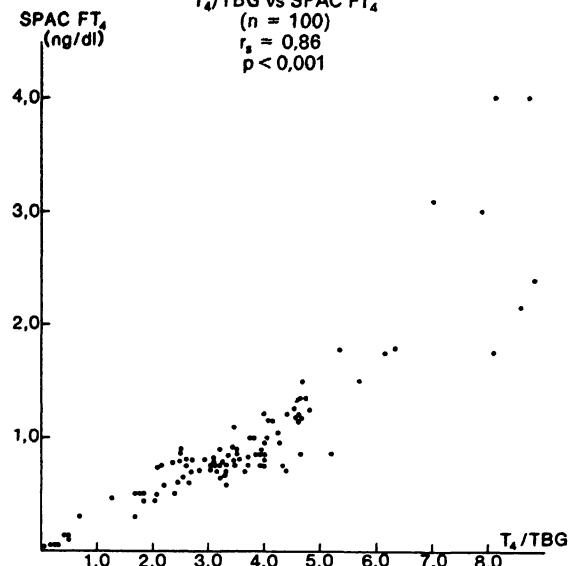


Abb. 6: Korrelation zwischen einem T₄/TBG-Quotienten und SPAC-FT₄ (n = 100, r_s = 0,86, p < 0,001)

Diskussion

Der hier vorgestellte indirekte Radioassay bestimmt folgende drei quantitative Parameter: Gesamt-T₄, FT₄-Fraktion und FT₄-Konzentration. Der mit 0,6 bis 1,2 ng/dl ermittelte euthyreote Bereich ist dem anderer FT₄-Bestimmungsmethoden gut vergleichbar. Wie unsere ersten Ergebnisse zeigen, lassen sich Euthyreote gut von Hypo- oder Hyperthyreoten diskriminieren und auch TBG-Erhöhungen oder TBG-Erniedrigungen beeinflussen die Ergebnisse nicht. Bei Patienten mit Schilddrüsenautonomie (autonome Adenome oder disseminierte Autonomie) und normalen Gesamthormonkonzentrationen in der Peripherie finden sich nicht nur signifikant höhere FT₄-Konzentrationen und FT₄-Fraktionen im Kollektiv gegenüber euthyreoten Patienten, sondern in gut 1/3 der Patienten bereits FT₄-Konzentrationen im hyperthyreoten Bereich, was darauf schließen läßt, daß das freie Hormon ein empfindlicherer Parameter als die Gesamthormone zu sein scheint. Bei Patienten unter T₄-Medikation fanden sich wie zu erwarten erhöhte FT₄-Konzentrationen bei normaler FT₄-Fraktion. Während der Schwangerschaft kommt es zu einer Abnahme sowohl der FT₄-Konzentration als auch der FT₄-Fraktion und im letzten Trimenon findet sich eine signifikant niedrigere FT₄-Konzentration und FT₄-Fraktion als zu Beginn der Gravidität bzw. bei Euthyreoten. Die FT₄-Konzentrationen liegen jedoch in der Regel noch im untersten euthyreoten Bereich. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit anderen Literaturberichten (5) und die niedrigen Konzentrationen sind wohl in erster Linie durch den überproportionalen Anstieg des TBG im Vergleich zum Gesamt-T₄ in der Spätschwangerschaft erkläbar; es können aber auch geänderte Bindungsaffinitäten nicht ausgeschlossen werden. Die gemessenen FT₄-Konzentrationen stimmen jedoch gut mit berechneten Werten überein (5).

Bei schweren extrathyreoidalen Erkrankungen („non-thyroidal-illness“ oder „low-T₃-syndrome“) fanden sich bei Vorliegen eines niedrigen Gesamt-T₄ normale, bei

AMERLEX FT₄ vs SPAC FT₄

(n = 100)

r_s = 0,82

(p < 0,001)

$$y = -0,047 + 0,759x$$

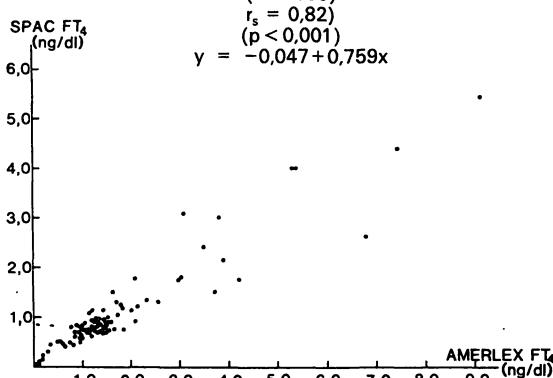


Abb. 5: Korrelation zwischen Amerlex-FT₄ und SPAC-FT₄ (n = 100, y = -0,047 + 0,759x, r_s = 0,82, p < 0,001)

normalem Gesamt-T₄ häufig supranormale bis deutlich erhöhte FT₄-Konzentrationen. Das Kollektiv der NTI-Patienten zeigte gegenüber Euthyreoten sowohl signifikant erhöhte FT₄-Konzentrationen als auch FT₄-Faktionen. Die von uns gefundenen Ergebnisse bei NTI-Patienten stehen in guter Übereinstimmung mit in der Literatur berichteten Ergebnissen der Gleichgewichtsdialyse (4), stehen jedoch im Gegensatz zu den mit einem Analog-FT₄-RIA ermittelten Werten. Die supranormalen bis deutlich erhöhten FT₄-Konzentrationen sind einerseits mit dem von Chopra (4) postulierten zirkulierenden Inhibitor erkläbar, mit größerer Wahrscheinlichkeit jedoch durch eine herabgesetzte T₄-Bindungsaffinität an Transportproteine (6) und eventuell auch durch eine zusätzlich herabgesetzte intrazelluläre T₄-Bindung (6). Von Lawlor und Blaustein (8) wurde bei NTI-Patienten mit der Gleichgewichtsdialyse ein weiter Bereich der FT₄-Fraktion von 0,013 bis 0,066% gefunden, welcher in ausgezeichneter Übereinstimmung mit dem von uns ermittelten Bereich der FT₄-Fraktion von 0,009 bis 0,058% bei diesen Patienten steht. Im Gegensatz zu den Analogmethoden ist jedenfalls mit dem SPAC-FT₄ eine Abgrenzung der NTI-Patienten zu Hypothyreoten leicht möglich.

Nach Heparin i.v. fand sich mit dem Amerlex-FT₄ ein rascher und deutlicher Abfall um über 40%, welcher auch aus der Literatur bekannt ist (3, 11) und durch eine Verdrängung von T₄ aus der Albuminbindung durch erhöhte freie Fettsäuren aufgrund der heparininduzierten Lipolyse erklärt wird (9, 10), während sich mit dem SPAC-FT₄ der erwartete signifikante Anstieg fand, welcher den aus Literaturberichten bekannten Ergebnissen der Gleichgewichtsdialyse (10, 11) entspricht.

Abgesehen von diesen Patientengruppen korrelierte der SPAC-FT₄ bei Patienten mit unterschiedlichen Schilddrüsenfunktionszuständen jedoch ausgezeichnet sowohl mit einem T₄/TBG-Quotienten als auch mit einem Analog-FT₄-RIA.

Der hier vorgestellte indirekte FT₄-Radioassay erfordert wohl einen etwas höheren Arbeits- und Zeitaufwand, liefert dafür aber drei quantitative Parameter: Gesamt-T₄, FT₄-Konzentration sowie FT₄-Fraktion (welche einen qualitativen Hinweis auf die Bindungsverhältnisse erlaubt) und ist unabhängig von den durch Albumininterferenz verursachten Fehlermöglichkeiten der Traceranalog-Methoden. Die Ergebnisse des SPAC-FT₄ sind besonders bei Patienten mit schweren extrathyreoidalen Erkrankungen den aus der Literatur bekannten Ergebnissen der Gleichgewichtsdialyse (welche noch immer als Referenzmethode gilt) besser vergleichbar als die mit einem Analog-FT₄-RIA gemessenen Werte.

Schriftum:

1. AMINO, N., NISHI, K., NAKATANI, K., MIZUTA, H., ICHIHARA, K., TANIZAWA, O., MLYAL, K.: Effect of albumin concentration on the assay of serum free thyroxin by equilibrium radioimmunoassay with labelled thyroxin analog (Amerlex® Free T4). *Clin. Chem.* 29, 321–325 (1983).
2. BAYER, M. F.: Free thyroxine results are affected by albumin concentration and nonthyroidal illness. *Clin. Chim. Acta* 130, 391–396 (1983).
3. BOSS, M., KONGSTONE, D., CHAN, M. K., VARGHESE, Z.: Contradictory findings in the measurement of free thyroxin after administration of heparin. *Clin. Chem.* 28, 1238–1239 (1982).
4. CHOPRA, I. J., VAN HERLE, A. J., CHUA TECO, G. N., NGUYEN, H.: Serum free thyroxine in thyroidal and nonthyroidal illnesses: a comparison of measurements by radioimmunoassay, equilibrium dialysis, and free thyroxine index. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51, 135–143 (1980).
5. FRESCO, G., CURTI, G., BIGGI, A., FONTANA, B.: Comparison of calculated and measured free thyroid hormones in serum in health and in abnormal states. *Clin. Chem.* 28, 1325–1329 (1982).
6. KAPTEIN, E. M., GRIEB, D. A., SPENCER, C. A., WHEELER, W. S., NICOLOFF, J. T.: Thyroxine metabolism in the low thyroxine state of critical non-thyroidal illnesses. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 53, 764–771 (1981).
7. KONISHI, J., IDA, Y., KOUSAKA, T., IKEKUBO, K., NAKAGAWA, T., TORIZUKA, K.: Effect of anti-thyroxine autoantibodies on radioimmunoassay of free thyroxine in serum. *Clin. Chem.* 28, 1369–1391 (1982).
8. LAWLOR, J. F., BLAUSTEIN, M.: Evaluation of free thyroxine measurements in patients with non-thyroidal illnesses. *Clin. Chem.* 27, 1457–1459 (1981).
9. LUNDBERG, P. A., JAGENBURG, R., LINDSTEDT, G., NYSTRÖM, E.: Heparin in vivo effect of free thyroxin. *Clin. Chem.* 28, 1241–1242 (1982).
10. MARDELL, R., GAMLEN, T. R.: Discrepant results for free thyroxin by radioimmunoassay and dialysis procedures explained. *Clin. Chem.* 28, 1989 (1982).
11. MC DOUGALL, R., BAYER, M. F., NIERENBERG, D., LEWIS, S. J.: Disparate effects of heparin on free thyroxine as measured by two radioimmunoassays: Concise communication. *J. Nucl. Med.* 23, 507–510 (1982).
12. STOCKIGT, J. R., STEVENS, V., WHITE, E. L., BARLOW, J. W.: "Unbound analog" radioimmunoassays for free thyroxin measure the albumin-bound hormone fraction. *Clin. Chem.* 29, 1408–1410 (1983).
13. THEIL, H.: In: Maritz, J. S. (Ed.) *Distribution free statistical methods*. Chapman and Hall, London, p. 145ff. (1981).

Anschrift des Verfassers

Dr. H. Köhn
Wilhelminenspital
Nuklearmedizinisches Institut
Montlearstraße 37
A-1171 Wien

