

Status mineral dan hormon tiroid pada penderita hipotiroidisme

Pramudji Hastuti,^{1,*} Untung Supriadi Widodo,² Rony Oktarizal,³
Andika Laksmna Kurniadi,³ Khoirul Anwar,³ Auladi Ahmad Ridho Siregar³

¹Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran, Pengabdian Masyarakat, dan Keperawatan,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

²Balai Pengobatan Gangguan Akibat Kekurangan Iodium (GAKI), Magelang, Indonesia

³Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan
Keperawatan, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta, Indonesia

Submitted: 22 Oktober 2018 Revised: 27 Oktober 2018 Accepted: 7 November 2018

ABSTRAK Rendahnya kadar hormon tiroid dalam sirkulasi mengakibatkan hipotiroidisme klinis dan menyebabkan berbagai proses metabolik turun. Untuk mempertahankan sintesis hormon tiroid dan pelepasannya diperlukan suplai beberapa mineral yang adekuat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar mineral Zn, Cu, Fe, dan Se dalam serum anak yang menderita hipotiroidisme dibandingkan dengan kontrol. Penelitian ini melibatkan 23 anak yang terdiri dari 11 anak yang mengalami hipotiroidisme dan 12 anak normotiroid sebagai kontrol. Kadar Zn, Cu, Fe dan Se serum ditentukan dengan spektrofotometer absorpsi atom. Uji statistik yang digunakan adalah uji t (nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna), kemudian *odds ratio* ditentukan untuk mengetahui hubungan antarvariabel. Kadar mineral yang diperiksa tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) antara penderita hipotiroidisme dengan kontrol. Rendahnya kadar Zn dan Se merupakan faktor risiko tingginya kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH) sebagai penanda terjadinya hipotiroidisme. Dapat disimpulkan bahwa rendahnya kadar beberapa mineral terutama Zn dan Se merupakan faktor risiko terjadinya hipotiroidisme. Karena kadar TSH dalam serum tidak hanya dipengaruhi oleh kadar mineral dalam tubuh, perlu dilakukan studi lebih lanjut dalam skala yang lebih besar dengan pengukuran faktor perancu lain.

KATA KUNCI status mineral; hormon tiroid; hipotiroidisme

ABSTRACT Low level of circulating thyroid hormone results in clinical hypothyroidism and causes many metabolic processes to slow down. To maintain thyroid hormone synthesis and release, an adequate supply of trace elements is required. In this study, serum content of the trace elements, namely Zn, Cu, Fe, and Se in hypothyroidism patients was determined and compared to that in control subjects. Twenty three subjects consist of 11 hypothyroid patients and 12 normotiroid children as controls participated in this study. Serum Zn, Cu, Fe and Se level were determined using atomic absorption spectrophotometer. T test was used for analysis and p value < 0.05 considered significant. Odds ratio was determined to study the relationship between variables. Serum mineral level in hypothyroid patients were not significantly different ($p > 0.05$) from the level in control subjects. Low level of Zn and Se were risk factor for high level of TSH as marker of hypothyroidism. It can be concluded that the low level of trace elements especially Zn and Se

*Corresponding author: **Pramudji Hastuti**

Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Farmako, Sekip Utara, Yogyakarta 55281, Indonesia
E-mail: pramudji.has@ugm.ac.id

were risk factor of the hypothyroidism. Because TSH serum level is not only influenced by the level of trace elements, further study is needed to analyze other influencing factors in larger population.

KEYWORDS mineral status; thyroid hormone; hypothyroidism

1. Pendahuluan

Glandula tiroid memerlukan iodine yang berasal dari diet untuk sintesis tiroksin (T_4) dan triiodotironin (T_3). Secara fisiologis, T_3 adalah hormon tiroid yang aktif dan aktivitasnya 3 kali lebih besar dibanding T_4 . Hormon tiroid dikontrol oleh *thyroid stimulating hormone* (TSH) yang disekresikan dari glandula pituitari anterior dengan sistem umpan balik negatif. Kadar TSH naik jika T_4 dan T_3 tidak disekresikan dari kelenjar tiroid dan kadar TSH turun jika kadar T_4 dan T_3 disekresikan dalam jumlah yang cukup. Hormon tiroid bertanggung jawab untuk sintesis protein, kontrol pertumbuhan, dan mempengaruhi metabolisme karbohidrat, lemak, dan vitamin.¹

Dalam glandula tiroid, iodida ditangkap dan ditransport ke lumen folikular untuk sintesis hormon tiroid. Sebelum masuk ke lumen, iodida bereaksi dengan residu tirosin dan dioksidasi oleh peroksidase tiroidal. Iodinasi tirosin membentuk monoiodotirosin dan diiodotirosin. Dua molekul diiodotirosin bergabung membentuk T_4 , dan satu molekul monoiodotirosin bergabung dengan satu molekul diiodotirosin membentuk T_3 . Hormon tiroid yang terbentuk disimpan pada tiroglobulin dalam lumen folikel tiroid sampai dilepaskan. TSH menstimulasi ambilan dan organifikasi iodida, serta pelepasan T_4 dan T_3 dari tiroglobulin.²

Retardasi mental merupakan gejala tersering dan yang paling dirasakan jika terjadi hipotiroid. Gejala hipotiroid yang lain adalah pembesaran kelenjar tiroid, frekuensi buang air besar yang berkurang, suara serak, kulit dan rambut tampak kering, pucat, dan denyut jantung lebih lambat.³ Selain itu, defisiensi iodine menyebabkan turunya kemampuan psikomotor, diplegia spastik, dan gangguan pertumbuhan intelektual, dari gangguan IQ yang sedang sampai retardasi mental berat.⁴ Diagnosis awal sangat penting untuk menjamin pertumbuhan otak pada beberapa bulan awal kehidupan. Prognosis menjadi lebih baik jika

gangguan ini diketahui seawal mungkin dengan tatalaksana yang memadai. Beberapa gangguan kognitif, visual, bahasa, memori, dan gangguan perhatian kadang masih tampak walaupun sudah dideteksi sejak awal dan diterapi dengan memadai.⁵

Prevalensi hipotiroidisme di Indonesia pada tahun 2001 sebesar 0,6%⁶, sementara di Thailand sebesar 0,7%⁷, dan di Turki sebesar 1,6%.⁸ Frekuensi hipotiroidisme di Iran sekira 3,6% atau 2 per 1.000 kelahiran⁹, sedangkan frekuensi kretinisme di daerah hiperendemik karena defisiensi iodine di Bangladesh sebesar 0,6%.⁸

Ada beberapa faktor pengganggu metabolisme hormon tiroid antara lain defisiensi selenium (Se), besi (Fe), tembaga (Cu), dan zink (Zn), yang jika bersamaan dengan defisiensi iodine, berubah manifestasi klinisnya.^{10,11} Defisiensi selenium menurunkan aktivitas enzim glutathion peroksidase. Gabungan defisiensi iodine dan turunya sintesis hormon karena defisiensi selenium menyebabkan timbunan hidrogen peroksida yang mengakibatkan kerusakan sel dan kemudian menyebabkan gangguan tiroid. Selenium juga penting untuk aktivitas enzim deiodinase, yang mengubah T_4 menjadi T_3 .¹²

Defisiensi besi menurunkan aktivitas tiroperoksidase yang tergantung *heme* di tiroid dan mengganggu produksi hormon tiroid. Kekurangan besi mempunyai gejala yang hampir sama dengan hipotiroid. Kadar besi yang rendah menurunkan aktivitas deiodinase yang selanjutnya menurunkan perubahan T_4 menjadi T_3 . Secara biologis, rendahnya kadar besi mempengaruhi sintesis hormon tiroid dengan menurunkan aktivitas enzim tiroid peroksidase yang tergantung Fe.¹³ Tiroid peroksidase mempengaruhi pengikatan iodine ke tirosin yang membentuk T_3 dan T_4 . Selain itu, rendahnya kadar Fe menaikkan kadar TSH sirkulasi. Hipotiroidisme sering terjadi bersamaan

dengan anemia. Rendahnya kadar hormon tiroid mempengaruhi fungsi berbagai organ termasuk ginjal yang merupakan tempat eritropoiesis.¹⁴

Cu dan Zn diperlukan untuk membentuk hormon tiroid dan mengubah T_4 menjadi T_3 .¹⁵ Cu dan Zn berperan penting dalam metabolisme tiroid, terutama produksi dan absorpsi hormon. Cu menstimulasi produksi T_4 , mencegah absorpsi berlebihan T_4 oleh sel darah dan mengontrol kadar kalsium tubuh. Perbandingan kadar Zn dan Cu dalam tubuh yang seimbang adalah 10 : 1 pada laki-laki dan 5 : 1 pada perempuan. Ketidak seimbangan proporsi mineral ini menyebabkan hipertiroid atau hipotiroid. Kurangnya Zn dalam darah menyebabkan terjadinya hipotiroid dan mengakibatkan turunnya metabolisme karena gangguan sistem imunitas.¹⁶

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui status mineral yaitu kadar Zn, Cu, Fe dan Se serum dan hormon tiroid pada penderita hipotiroidisme dan membandingkannya dengan kontrol.

2. Metode

Subjek penelitian adalah anak yang diperiksa di Balai Pengobatan Gangguan Akibat Kekurangan Iodium (BP GAKI) Borobudur Magelang. Daerah tersebut merupakan daerah endemik gondok. Penelitian dilakukan selama 8 bulan. Kriteria inklusi penelitian ini adalah pasien yang baru didiagnosis menderita pertumbuhan lambat oleh dokter spesialis anak. Pasien dengan penyakit komorbid seperti penyakit infeksi dan autoimun, serta pasien yang sudah menjalani operasi pengangkatan tiroid dan pemberian multimineral dieksklusi. *Informed consent* diberikan oleh orangtua atau keluarga pasien yang mengantar sebelum pengambilan sampel dilakukan. Subjek dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok hipotiroid dan kelompok kontrol. Sampel darah subjek diambil sebanyak 3 mL untuk penentuan kadar TSH, T_4 , dan mikromineral. Penentuan kadar TSH dan T_4 bebas dilakukan dengan metode *radio immuno assay* (RIA), sedangkan penentuan kadar mineral dilakukan dengan metode spektrofotometer absorpsi atom (AAS). Sampel kemudian diperiksa di Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu

(LPPT) UGM setelah dilakukan preparasi di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan (FK-KMK) UGM. Kadar TSH 0,3-3,04 mIU/L, T_4 5-12 $\mu\text{g/dL}$, Zn 7,65 -22,95 $\mu\text{mol/L}$, Fe 50-175 $\mu\text{g/dL}$, Cu 16-21 $\mu\text{mol/L}$, dan Se 25,5-45,90 $\mu\text{g/L}$ dinyatakan normal. Untuk menentukan perbedaan antara kelompok penderita hipotiroidisme dan kontrol dilakukan analisis dengan uji t. Hasil pengukuran dinyatakan berbeda bermakna jika $p < 0,05$. Peran mineral sebagai faktor risiko terjadinya hipotiroidisme dilihat dari *odds ratio*. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah metode *consecutive sampling* yang merupakan metode pengambilan sampel secara berurutan hingga jumlah sampel memenuhi.

3. Hasil

BP GAKI di Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah merupakan tempat rujukan gangguan akibat kekurangan iodium di Jawa Tengah dan sekitarnya. Pada penelitian ini 23 orang pasien yang mengalami pertumbuhan lambat dan kelemahan ekstremitas yang datang ke BP GAKI diperiksa. Rentang usia subjek penelitian adalah 3 hingga 12 tahun, dan rata-rata memasuki usia balita. Semuanya berasal dari daerah Jawa Tengah dan sekitarnya. Subjek penelitian memiliki penyakit komorbid terutama kelumpuhan dan gangguan pertumbuhan tulang. Setelah kadar TSH dan T_4 diperiksa, 11 subjek mempunyai kadar TSH tinggi dan dimasukkan ke dalam kelompok hipotiroid, sedangkan 12 orang lainnya mempunyai kadar TSH normal dan dimasukkan ke dalam kelompok kontrol. Kadar TSH, T_4 , dan mineral pada kedua kelompok ditunjukkan pada Tabel 1.

Kadar TSH berbeda bermakna secara statistik antara kelompok hipotiroid dan kontrol ($p < 0,05$), sedangkan kadar T_4 , Cu, Zn, Fe, dan Se tidak berbeda bermakna antarkelompok ($p > 0,05$). Penderita hipotiroid dan kontrol dengan kadar mineral Zn, Se, dan Cu yang rendah serta kadar Fe yang tinggi dikelompokkan dan dianalisis untuk mengetahui pengaruh kadar mineral tersebut terhadap tingginya kadar TSH (Tabel 2). Kadar TSH

Tabel 1. Kadar TSH, T₄, Cu, Zn, Fe, dan Se pada kelompok hipotiroid dan kontrol

	Hipotiroid (n=11)	Kontrol (n=12)	p
TSH (mIU/L)	12,7 ± 13,7	2,1 ± 0,5	0,01
T ₄ (µg/dL)	7,7 ± 4,2	8,0 ± 1,6	0,103
Cu (µmol/L)	8,3 ± 7,2	10,7 ± 6,8	0,657
Zn (µmol/L)	5,8 ± 4,7	9,2 ± 4,9	0,896
Fe (µg/dL)	106,3 ± 28,4	128,1 ± 70,2	0,092
Se (µg/L)	24,7 ± 8,3	26,8 ± 9,5	0,964

TSH: *thyroid stimulating hormone*, T₄: tiroksin, Cu: tembaga, Zn: seng, Fe: besi, Se: selenium. Kadar TSH, T₄, Cu, Zn, Fe, dan Se dinyatakan dalam rerata ± simpangan baku. Apabila nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan bermakna.

Tabel 2. Pengaruh abnormalitas kadar mineral terhadap kadar TSH

TSH	> 3,04 mIU/L*	< 3,04 mIU/L*	OR (CI 95%)
Zn < 7,65 µmol/L	6	3	3,60
Zn > 7,65 µmol/L	5	9	(0,46-31,62)
Fe > 175 µg/dL	1	1	1,10
Fe < 175 µg/dL	10	11	(0,00-47,71)
Cu < 7,65 µmol/L	9	10	0,90
Cu > 7,65 µmol/L	2	2	(0,07-11,89)
Se < 25,5 µg/L	6	4	2,40
Se > 25,5 µg/L	5	8	(0,33-18,74)

*Nilai batas 3,04 didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh Wang et al.¹⁷

tinggi dan T₄ rendah hanya ditemukan pada 2 subjek dari 11 subjek hipotiroid yang diperiksa, sedangkan semua anak yang mempunyai kadar TSH normal juga mempunyai kadar T₄ normal sehingga tidak dilakukan analisis hubungan antara kadar mineral dengan kadar T₄. Hal tersebut menunjukkan bahwa hanya memeriksa kadar T₄ untuk mendeteksi hipotiroid kurang akurat. TSH adalah indikator yang sensitif untuk hipotiroidisme pada bayi baru lahir.¹⁶

Tabel 2 menunjukkan bahwa pasien dengan kadar Zn dan Se rendah mempunyai risiko mengalami peningkatan kadar TSH masing-masing 3,6 dan 2,4 kali namun tidak bermakna secara statistik. Rendahnya kadar Cu dan tingginya kadar Fe bukan merupakan faktor risiko tingginya kadar TSH.

4. Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa TSH

dapat digunakan sebagai penanda terjadinya hipotiroidisme namun T₄ bukan merupakan penanda yang baik. Hipotiroid pada awal masa kehidupan anak, baik permanen maupun transien akan mengakibatkan hambatan pertumbuhan dan retardasi mental. Penelitian yang dilakukan di Amerika Serikat pada survey *National Health and Nutritional Examination Survey* (NHANES) III, menunjukkan kadar iodin urin rendah ditemukan pada 11,7% populasi pada tahun 1988-1994, 4,5 kali lebih tinggi dibanding hasil penelitian pada tahun 1971-1974.¹⁸ Penelitian pada pasien berusia 60 tahun ke atas di Birmingham menunjukkan bahwa terdapat 11,6% wanita dan 2,9% laki-laki dengan kadar TSH tinggi.¹⁹

Ketidakseimbangan Cu dan Zn dapat mengakibatkan baik hipertiroid maupun hipotiroid. Cu dan Zn bekerja bersama-sama dalam tubuh sebagai antioksidan. Zn diperlukan dalam kerja 1,5'-deiodinase, enzim untuk mengubah T₄ menjadi

T₃. Rendahnya asupan Zn berhubungan dengan turunnya kadar hormon tiroid pada pasien goiter. Terdapat penurunan T₃ dan T₄ bebas pada pasien baik laki-laki maupun perempuan yang mengalami goiter dengan defisiensi Zn. Status tiroid normal tergantung pada berbagai elemen kelumit baik yang berfungsi untuk sintesis maupun metabolisme hormon tiroid.²⁰

Pada penelitian ini, penderita hipotiroidisme mempunyai kadar mineral yang tidak berbeda bermakna dibanding kontrol, namun rendahnya kadar Zn dan Se meningkatkan risiko peningkatan kadar TSH masing-masing sebesar 3,6 dan 2,4 kali dibanding kadar mineral yang normal. Penelitian yang dilakukan oleh Al Juboori²¹ menunjukkan bahwa kadar Zn dan Se pada pasien hipotiroidisme lebih rendah dibanding kontrol, sedangkan kadar Cu tidak berhubungan dengan kejadian hipotiroidisme. Hasil tersebut menunjukkan peran elemen kelumit pada beberapa proses metabolik, baik sebagai zat gizi esensial maupun sebagai kofaktor untuk beberapa enzim, yang berperan baik secara langsung atau tidak langsung pada metabolisme hormon tiroid.

Penelitian oleh Paul¹¹ yang dilakukan di Italia pada 52 pasien sindroma Down menunjukkan bahwa 30% pasien mengalami hipotiroid. Sembilan dari 17 pasien yang mempunyai kadar Zn rendah, menunjukkan perbaikan fungsi tiroid setelah penambahan Zn. Suplementasi Zn pada diet akan memperbaiki dengan cepat fungsi glandula timus. Fungsi glandula timus berhubungan dengan fungsi pituitari tiroid.

Zn bersama dengan mineral lainnya meningkatkan fungsi tiroid. Beberapa mineral lain yang berhubungan dengan fungsi tiroid antara lain I, Cu, dan Fe.^{11,22} Zn diperlukan dalam membentuk hormon tiroid dan mengubah T₄ menjadi T₃. Se penting untuk mengubah T₄ menjadi T₃ sehingga Se sering diberikan untuk suplemen pada pasien dengan gangguan tiroid. Zn juga diperlukan untuk mencegah terjadinya gangguan pada tiroid. Zn terlibat dalam perubahan hormon T₄ inaktif menjadi T₃. Berlebihnya hormon tiroid inaktif dalam tubuh menyebabkan rendahnya aktivitas glandula tiroid.

Kadar yang adekuat baik Zn maupun Cu membantu memperbaiki kesehatan tiroid.¹² Pemberian Zn pada wanita dengan defisiensi Zn selain dapat menaikkan kadar Zn plasma juga dapat menurunkan kadar ferritin serum dan meningkatkan kadar hormon tiroid terutama T₃.²³

Cu berperan penting dalam metabolisme tiroid, terutama pada proses produksi dan absorpsi hormon. Cu juga diperlukan untuk sintesis fosfolipid yang terdapat dalam myelin yang melindungi saraf. Fosfolipid diperlukan untuk menstimulasi TSH. Oleh karena itu diperlukan cukup Cu untuk mencegah terjadinya gangguan pada tiroid dan untuk pengobatan penyakit tiroid.²⁴

Defisiensi Fe mengganggu sintesis hormon tiroid karena menurunkan aktivitas tiroid peroksidase yang tergantung *heme*.¹³ Defisiensi Fe mempunyai efek yang terbalik terhadap metabolisme tiroid dan menurunkan efikasi profilaksis iodin di daerah endemik goiter. Suplementasi besi meningkatkan efikasi garam periodium pada anak goiter dengan defisiensi besi.²⁵ Kadar hormon tiroid yang rendah dapat mempengaruhi berbagai organ termasuk ginjal. Fungsi utama ginjal adalah untuk menghasilkan hormon eritropoietin yang menstimulasi produksi sel darah merah pada sumsum tulang. Defisiensi Fe dapat menyebabkan terjadinya anemia karena hipotiroidisme. Walaupun anemia mikrositik dapat terjadi, hipotiroidisme sering dihubungkan dengan anemia makrositik karena gangguan absorpsi vitamin B₁₂.¹⁴ Defisiensi Fe secara bermakna menurunkan perubahan T₄ menjadi T₃, dan memblokir sifat termogenik hormon tiroid. Oleh karena itu, pasien dengan defisiensi Fe menunjukkan saturasi besi di bawah 25% atau kadar ferritin di bawah 70 µg/mL, yang menurunkan kadar T₃ intrasel.^{13,26,27} Tanpa penapisan hipotiroidisme, retardasi mental yang dapat dicegah sering terlambat ditangani di India.²⁸

Keterbatasan penelitian ini adalah sedikitnya jumlah sampel, variabel pengganggu tidak dimasukkan ke dalam analisis statistik, tidak dilakukan pengambilan data faktor genetik atau kelainan bawaan subjek penelitian, dan T₃ yang

merupakan prediktor sensitif kondisi hipotiroidisme tidak diperiksa karena keterbatasan waktu dan biaya penelitian.

5. Kesimpulan

Rendahnya kadar mineral terutama Zn dan Se merupakan faktor risiko terjadinya hipotiroidisme. Kadar TSH dalam serum tidak hanya dipengaruhi oleh kadar mineral dalam tubuh sehingga perlu dilakukan studi lebih lanjut dalam skala yang lebih besar dengan mempertimbangkan faktor perancu lain.

Pemantauan berkelanjutan perlu dilakukan baik sebelum maupun setelah diberikan multimineral. Subjek penelitian yang menjadi kontrol perlu ditambahkan dari populasi normotiroid dengan kadar TSH normal. Bagi penderita hipotiroidisme terutama di daerah gondok endemik selain mengonsumsi cukup iodium, juga perlu mengonsumsi mineral secara seimbang untuk memperbaiki fungsi tiroidnya. Selain itu juga sangat disarankan untuk tidak mengonsumsi bahan makanan yang memiliki banyak senyawa goitrogenik.

Ucapan terima kasih

Terima kasih peneliti ucapkan kepada Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Dana Masyarakat (DAMAS) FK-KMK UGM.

Daftar pustaka

- Allen PJ, Fomenko SD. Congenital hypothyroidism. *Pediatr Nurs*. 2011;37(6):324-326.
- Laurberg P, Cerqueira C, Ovesen L, Rasmussen LB, Perrild H, Andersen S, et al. Iodine intake as a determinant of thyroid disorders in populations. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010;24:13–27.
- Shanholtz HJ. Congenital hypothyroidism. *J Pediatr Nurs*. 2013;28(2):200-2.
- Chung HR. Iodine and thyroid function. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;19(1):8.
- Postellon DC, Kemp S. *Congenital hypothyroidism* [Internet]. Pediatrics: General Medicine; 2010. [cited 2018 October 20]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/919758-overview>
- de Escobar GM, Obregon MJ, del Rey FE. Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutr*. 2007;10(12A):1554–70.
- Dhaar GM, Robbani I. Foundations of community medicine. India: Reed Elsevier; 2008. Chapter: Nutritional problems of mothers and children. p.272–280.
- Hwang S, Lee EY, Lee WK, Shin DY, Lee EJ. Correlation between iodine intake and thyroid function in subjects with normal thyroid function. *Biol Trace Elem Res*. 2011;143:1393–97.
- Najafi M, Khodaei GH, Bahari M, Sabahi M, Farsi MM, Kiani F. Neonatal thyroid screening in a mild iodine deficiency endemic area in Iran. *Indian J Med Sci*. 2008;62:113–6.
- Khattak RM, Khattak MN, Ittermann T, Völzke H. Factors affecting sustainable iodine deficiency elimination in Pakistan: A global perspective. *J Epidemiol*. 2017;27(6):249-57.
- Rasic-Milutinovic Z, Jovanovic D, Bogdanovic G, Trifunovic J, Mutic J. Potential influence of selenium, copper, zinc and cadmium on l-thyroxine substitution in patients with Hashimoto thyroiditis and hypothyroidism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017;125(02):79-85.
- Goldstein M. The nature of animal healing: The definitive holistic medicine guide to caring for your dog and cat. New York: Ballantine Books; 2009.
- Zimmermann MB, Köhrle J. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health. *Thyroid*. 2002;12(10):867-78.
- Ravanbod M, Asadipooya K, Kalantarhormozi M, Nabipour I, Omrani G. Treatment of Iron-deficiency Anemia in Patients with Subclinical Hypothyroidism. *Am J Med*. 2013;126(5):420-

- 4.
15. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Yogyakarta: Sagung Seto; 2011.
16. Andersen S, Karmisholt J, Pedersen KM, Laurberg P. Reliability of studies of iodine intake and recommendations for number of samples in groups and in individuals. *Br J Nutr.* 2008;99(4):813-8.
17. Wang F, Tan Y, Wang C, Zhang X, Zhao Y, Song X, *et al.* Thyroid-stimulating hormone levels within the reference range are associated with serum lipid profiles independent of thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2724-31.
18. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JL, *et al.* American thyroid association taskforce on hypothyroidism in adults. clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the american association of clinical endocrinologists and the american thyroid association. *Endocr Pract.* 2012;18(6):988-1028.
19. Biondi B. The normal TSH reference range: what has changed in the last decade?. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:3584-7.
20. Kandhro GA, Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, Baig JA, Arain MB, *et al.* Effect of zinc supplementation on the zinc level in serum and urine and their relation to thyroid hormone profile in male and female goitrous patients. *Clin Nutr.* 2009;28(2):162-8.
21. Al-Juboori IA, Al-Rawi R, A-Hakeim HK. Estimation of serum copper, manganese, selenium, and zinc in hypothyroidism patients. *IJFS J Biol.* 2009;68(2):121-6.
22. Betsy A, Binitha MP, Sarita S. Zinc deficiency associated with hypothyroidism: An overlooked cause of severe alopecia. *Int J Trichology .* 2013;5(1):40.
23. Maxwell C, Volpe SL. Effect of zinc supplementation on thyroid hormone function: A case study of two college females. *Ann Nutr Metab.* 2007;51(2):188-94.
24. World Health Organization. Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2005
25. Zimmermann MB, Aeberli I, Andersson M, Assey V, Yorg JA, Jooste P, *et al.* Thyroglobulin is a sensitive measure of both deficient and excess iodine intakes in children and indicates no adverse effects on thyroid function in the UIC range of 100–299 µg/L: A UNICEF/ICCIDD study group report. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):1271-80.
26. Khatiwada S, Gelal B, Baral N, Lamsal M. Association between iron status and thyroid function in Nepalese children. *Thyroid Res.* 2016;9(1):2.
27. Zimmermann MB. The influence of iron status on iodine utilization and thyroid function. *Annu Rev of Nutr.* 2006;26:367-89.
28. Seth A, Aggarwal V, Maheshwari A. Hypothyroidism in children beyond 5 y of age: Delayed diagnosis of congenital hypothyroidism. *Indian J Pediatr.* 2012;79(7):891-5.