

Resistencia a la levotiroxina en niños y adolescentes: identificación de bioindicadores para el tratamiento dirigido del hipotiroidismo con $T_4 + T_3$

Resistance to levothyroxine in children and adolescents: identification of biomarkers for the targeted treatment of hypothyroidism with $T_4 + T_3$

José Carlos Moreno¹, María Chueca Guindulain², Paula Casano³, Gema Grau Bolado⁴, José Ignacio Perales⁵, Ariadna Campos⁶, Isabel González-Casado⁷, Amparo Rodríguez⁸, Susana Ares⁷

¹ Laboratorio Molecular de Tiroides. Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM). Hospital Universitario la Paz. Madrid (España)

² Hospital Virgen del Camino. Pamplona (España)

³ Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona (España)

⁴ Hospital de Cruces. Bilbao (España)

⁵ Hospital Miguel Servet. Zaragoza (España)

⁶ Hospital Vall d'Hebron. Barcelona (España)

⁷ Hospital Universitario La Paz. Madrid (España)

⁸ Hospital Gregorio Marañón. Madrid (España)

Introducción

La levotiroxina es actualmente la formulación más utilizada para el tratamiento del hipotiroidismo en todo el mundo. Es un fármaco seguro y eficaz para restaurar el estado eutiroideo en la mayoría de los pacientes con hipotiroidismo, incluidos los niños con hipotiroidismo congénito⁽¹⁾. Sin embargo, en la endocrinología de adultos se ha demostrado que existe una forma de "resistencia" a la hormona tiroidea exógena (RHTE, o RETH por su siglas en inglés) en el 5-10% de la población hipotiroidea, particularmente en pacientes sometidos a tiroidectomía^(2,3). A pesar del correcto cumplimiento del tratamiento con levotiroxina, los pacientes afectados se quejan de forma persistente de síntomas como letargo, déficit de concentración, ansiedad y nerviosismo, que se resumen en un estado de malestar físico y psíquico. Las Asociaciones de Tiroides Europea y Americana reconocen este fenómeno y publicaron de forma independiente directrices sobre cómo abordar el problema, incluidas reco-

mendaciones para modificar la estrategia de sustitución hormonal, desde la clásica levotiroxina aislada a otra combinada con levotiroxina + triyodotironina (T_3), en determinadas circunstancias clínicas^(2,3). Reconocer y sospechar tales circunstancias clínicas es muy importante, ya que la tiroxina (T_4) libre (parámetro más utilizado para determinar si realmente existe el hipotiroidismo) puede mostrarse normal en el suero (o incluso elevada yatrógenamente), lo que hace que la resistencia a la levotiroxina corra el riesgo de pasar desapercibida en la práctica clínica. Un alto índice de sospecha de una RHTE es esencial en los endocrinólogos pediátricos, puesto que, dependiendo de su edad, nuestros pacientes hipotiroideos son incapaces de expresar correctamente su letargo, falta de concentración, ansiedad o nerviosismo. Por esto es crucial la identificación de biomarcadores sensibles y fiables, aplicables a la práctica clínica, que indiquen que un paciente hipotiroideo pediátrico con levotiroxina aislada pueda presentar una RHTE de forma inequívoca. Sin embargo, hasta fechas muy recientes no se había identificado un biomarcador, asequible y seguro en clínica, que nos indicara que un paciente tiene un problema de desyodación de T_4 a T_3 , la hormona tiroidea activa, y, por tanto, un hipotiroidismo tisular: un hipotiroidismo que ocurre exclusivamente en los tejidos periféricos, lugares donde son enzimáticamente activas las desyodasas de yodotironinas de tipo I (D1) y de tipo II (D2).

Correspondencia:

José Carlos Moreno
Laboratorio Molecular de Tiroides, Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM), Hospital Universitario La Paz, Paseo de la Castellana 261, 28046 Madrid, España
E-mail: josecarlos.moreno@salud.madrid.org

Situación en pediatría

Nos podemos preguntar razonablemente cómo podemos abordar este fenómeno en la atención endocrinológica pediátrica. ¿Puede la RHTE ocurrir exclusivamente en adultos con hipotiroidismo y no en niños que usan el mismo medicamento? ¿Hasta qué punto podemos suponer que los niños y adolescentes hipotiroideos que se han sometido a tiroidectomía (por bocio compresivo, enfermedad de Graves o cáncer de tiroides) están 'exentos' de experimentar RHTE? Y, como caso pediátrico particular, ¿cómo puede afectar la resistencia a la levotiroxina a los niños con agenesia congénita de la glándula tiroides, pues nunca pudieron sintetizar el habitual 10% de hormona tiroidea en forma de T_3 ?. En ausencia de un consenso internacional sobre la mejor forma de detectar la RHTE, es concebible que los pediatras se enfrenten al desafío adicional de sospechar una RHTE en niños con hipotiroidismo bajo levotiroxina que no pueden comunicar adecuadamente su estado de malestar.

Fisiopatología de la resistencia a la hormona tiroidea exógena

Aún no se ha establecido completamente la fisiopatología global de la resistencia a la T_4 exógena. Sin embargo, el hecho de que los síntomas de RHTE, similares a los del hipotiroidismo clásico, sean concomitantes con un 'eutiroidismo de T_4 ' en el suero, llevó a la hipótesis de que la RHTE genera un tipo de hipotiroidismo que sólo existe en los tejidos. La activación y la inactivación de la hormona tiroidea se realizan en los tejidos locales mediante tres selenoenzimas diferentes: las desyodasas de yodotironina D1, D2 y D3 (codificadas desde los genes *DIO1*, *DIO2* y *DIO3*, respectivamente). Mientras que D1 y D2 convierten la T_4 en T_3 (la forma activa de la hormona tiroidea), D3 convierte T_4 y T_3 en T_3 reversa y T_2 (3,5-diiodotironina), metabolitos inactivos para la transcripción de genes diana (Figura 1). La presencia de cada desyodasa es diferente en diferentes tejidos: D1 es muy importante en el hígado, D2 está principalmente en la hipófisis (regulando la retroalimentación negativa de la tirotrópina), el cerebro y los músculos, y D3 se expresa en el cerebro.

Curiosamente, los ratones *knockout* del gen *Dio2* (que codifica D2) presentan resistencia hipofisaria a los efectos de la T_4 exógena, lo que sugiere que los defectos de RHTE y las desyodasas también podrían estar relacionados causalmente en humanos. Sin embargo, hasta fechas muy recientes no se han encontrado defectos en los genes *DIO1*, *DIO2* o *DIO3* humanos. Recientemente, dos descubrimientos importantes han arrojado luz sobre la causa y los mecanismos de la resistencia a la levo-

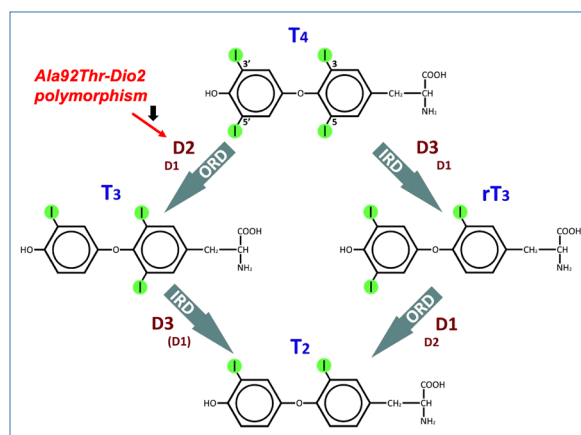


Figura 1. Rutas de desyodación de yodotironinas en los tejidos. D1, D2 y D3: enzimas desyodasas de tipos 1, 2 y 3. D2 es la enzima más eficiente en la activación de T_4 a T_3 a través de la desyodación del anillo externo (ORD). D3 es la enzima más eficiente inactivando T_4 a T_3 reversa, y T_3 a T_2 por desyodación del anillo interno (IRD). D1 es capaz de ambas actividades, pero es más eficiente en la desyodación del anillo externo (ORD) que del interno (IRD). El polimorfismo Ala92 de la D2 reduce su capacidad para generar T_3 en un modelo murino de hipotiroidismo cerebral local.

tiroxina en humanos y ratones. Castagna et al demostraron que un polimorfismo humano muy frecuente en *DIO2* (Ala92Thr-D2) reduce la actividad de la enzima *in vitro* y genera menos T_3 que la enzima de tipo salvaje bajo los estímulos adecuados⁽⁴⁾. También demostraron por primera vez que pacientes adultos tiroidectomizados y tratados con levotiroxina que portan el polimorfismo Ala92Thr en D2 tenían T_3 significativamente más bajas en el suero, en comparación con sus niveles previos a su cirugía⁽⁴⁾. Estos hallazgos muestran inequívocamente que ciertos polimorfismos frecuentes en *DIO2* son 'funcionales' y pueden afectar al metabolismo de la hormona tiroidea, reflejándose en los parámetros séricos. La pregunta sigue siendo si tales polimorfismos pueden realmente obstaculizar el estado eutiroides de los tejidos, especialmente el cerebro, en pacientes hipotiroideos que toman sólo levotiroxina. Esta hipótesis ha sido demostrada en un artículo fundamental de Jo et al, donde se demuestra que ratones con expresión cerebral específica de la variante Ala92 de D2 presentan efectivamente un hipotiroidismo cerebral, pero no en el suero⁽⁵⁾. Además, demostraron que la proteína anómala de D2 es retenida en el retículo endoplásmico, lo que causa estrés del retículo endoplásmico, lo que desencadena un exceso de degradación de esta desyodasa mutante. De gran relevancia clínica, estos autores realizaron pruebas de comportamiento en los roedores y demostraron que el hipotiroidismo cerebral era depen-

diente de T_3 , y causaba un fenotipo de mala memoria, ansiedad y miedo, que remedaba las quejas psicológicas en los pacientes con RHTE.

Diagnóstico de la resistencia a la hormona tiroidea exógena, un reto clínico

Desde el punto de vista de la aplicación clínica a pacientes, la mejor noticia de los hallazgos mencionados es que el 'fenotipo hipotiroideo-cerebral' de los ratones Ala92-D2 puede ser revertido mediante la administración de $T_4 + T_3$ (o una chaperona del retículo endoplásmico), pero no con T_4 aislada, que no puede remediar los síntomas del hipotiroidismo cerebral de T_3 . Estos elegantes trabajos representan un tema de reflexión para los endocrinólogos, pero especialmente para los endocrinólogos pediátricos, responsables del cuidado de los niños hipotiroideos que no pueden comunicar de manera integral los síntomas típicos de la RHTE. Sin embargo, queda identificar un método eficaz para identificar qué pacientes hipotiroideos en la clínica tienen RHTE y, por tanto, podrían beneficiarse de un tratamiento combinado de $T_4 + T_3$, esto es, se necesita un biomarcador de RHTE en pacientes bajo levotiroxina. Recientemente, nuestro grupo ha analizado en el suero las tres yodotironinas (T_4 , T_3 y T_3 reversa) en pacientes adultos y pediátricos con alta sospecha de RHTE, y revelado que la ratio sérica de T_3 y T_3 reversa (T_3/T_3 reversa) disminuida es el mejor biomarcador para identificar a pacientes hipotiroideos con RHTE⁽⁶⁾.

Muy recientemente, nuestro grupo ha identificado las primeras mutaciones patógenas en *DIO1* en pacientes adultos con RHTE. Estos dos hallazgos representan la clave para un tratamiento con $T_4 + T_3$ dirigido a pacientes con certeza clínica y genética de RHTE. Pero antes, ha de demostrarse en ensayos clínicos controlados la eficacia del tratamiento combinado de $T_4 + T_3$, o bien de otras modalidades propuestas, como las chaperonas de retículo endoplásmico (como el ácido 4-fenilbutírico, ya empleado en niños con metabolopatías) en la resolución de la resistencia hormonal y todos los síntomas hipotiroideos que conlleva, que es el objetivo final que perseguimos con este proyecto.

Objetivos

- Identificar a niños y adolescentes con sospecha de RHTE a través de la ratio tirotrópina/ T_4 libre y confirmar el diagnóstico a través de tres biomarcadores: T_3/T_4 , T_3 reversa/ T_4 y T_3/T_3 reversa, y determinar cuál de ellos es el más sensible en la identificación de la RHTE pediátrica.

- Analizar la prevalencia de estos defectos de resistencia a la levotiroxina en población pediátrica y adolescente, así como la etiología del hipotiroidismo que llevó a la necesidad de tratamiento sustitutivo con levotiroxina.
- Determinar si los pacientes con RHTE son portadores o no del polimorfismo de Ala92Thr en el gen *DIO2*, y estudiar la base genética de este fenómeno en otras desyodasas y en genes cuya función es el mantenimiento de la homeostasis del retículo endoplásmico, a través de un panel de secuenciación masiva.
- Realizar, a futuro, un ensayo clínico controlado en niños mayores de 3 años y adolescentes con RHTE (confirmada por clínica y por biomarcadores: *ratios* de yodotironinas) para determinar las posibles ventajas de la terapia combinada $T_4 + T_3$ o de chaperonas.

Metodología

La sospecha de RHTE se determinó con una ratio de tirotrópina/ T_4 libre⁽⁶⁾, o bien una imposibilidad de normalizar la tirotrópina con dosis habituales de levotiroxina.

La confirmación de la RHTE se llevó a cabo con la determinación sérica de T_4 , T_3 y T_3 reversa totales por radioinmunoensayo de manera centralizada y, en paralelo, con la determinación local en cada hospital de las hormonas libres T_4 , T_3 y T_3 reversa, y se calcularon las ratios T_3/T_4 , T_3 reversa/ T_4 y T_3/T_3 reversa en fase eutiroides del defecto (aceptando una hipertirotrópinemia moderada <10 mU/L). Los rangos que se deben aplicar sobre la normalidad de las ratios son los ya descritos⁽⁶⁾.

Se compararon las *ratios* de hormonas totales y libres para definir el método de referencia del diagnóstico actual de RHTE a través de radioinmunoensayo.

Se estudió genéticamente a los niños afectados de RHTE tanto para polimorfismos frecuentes en la D2 como para defectos genéticos en otras desyodasas y factores como SECISBP2, que ayudan a la síntesis de selenoproteínas, y también genes de la homeostasis del retículo endoplásmico, a través de un panel dirigido de tiroides con 490 genes (TiroSeq-V2).

El planteamiento más adecuado del ensayo clínico en fase II, consensuado con expertos en farmacología clínica, es un ensayo de tipo 'add-on' con dos brazos experimentales y tres fases de evaluación clínica y analítica, como se representa esquemáticamente en la [figura 2](#).

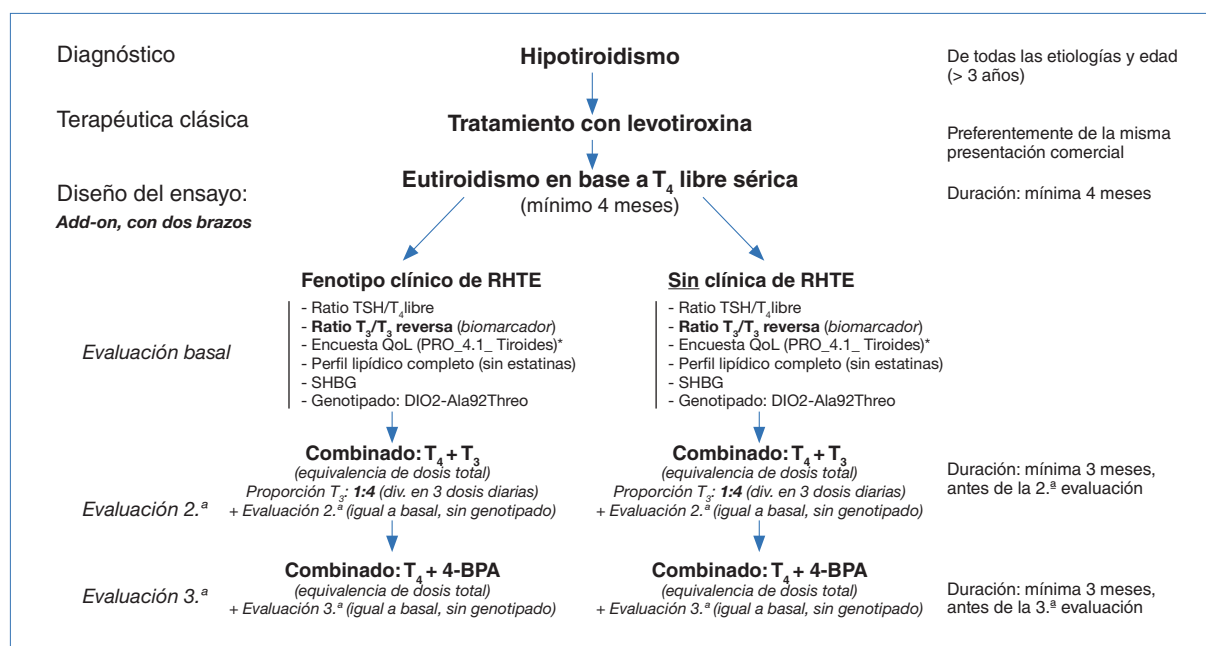


Figura 2. Propuesta de ensayo clínico en pacientes hipotiroideos con RHTE para testar la eficacia individual de terapia combinada ($T_4 + T_3$) y chaperonas.

Resultados

En el momento actual del desarrollo del proyecto, hemos identificado una cohorte de 13 niños hipotiroideos españoles con sospecha de RHTE, a quienes se caracterizó clínicamente y se estudió la homeostasis tisular tiroidea. Se determinaron la tirotrópina y la T_4 libre por quimioluminiscencia y las yodotironinas totales T_3 , T_4 y T_3 reversa por radioinmunoensayo. Se calculó la ratio tirotrópina/ T_4 libre (en mU/L y pmol/L) en el momento de la sospecha clínica, y las tres ratios de yodotironinas totales: T_3/T_4 (en nmol/L, $\times 10^3$), T_3 reversa/ T_4 (en nmol/L $\times 10^{-2}$) y T_3/T_3 reversa (en nmol/L) para la confirmación diagnóstica de RHTE, comparado con rangos establecidos en unidades internacionales. Se calculó la dosis de levotiroxina en $\mu\text{g/kg/día}$ en el momento de las determinaciones. Genéticamente, se estudió a los pacientes por secuenciación de nueva generación con un panel tiroideo de diseño propio (TiroSeq-v2).

Los pacientes con RHTE tenían una edad entre 6 meses y 5 años. La etiología del hipotiroidismo subyacente fue múltiple, y predominaron las disgenesias tiroideas (41%; tres agenesias, dos hipoplasias), las dishormonogénias con glándula *in situ* (33%; dos hipotiroidismos congénitos bociógenos y dos hipertirotrópinemias congénitas), el síndrome de Danon (15%; dos pacientes) y el síndrome eutiroido enfermo durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos (1%; un paciente).

En la sospecha clínica, la media de tirotrópina/ T_4 libre estaba muy elevada en todos los pacientes: $0,38 \pm 0,2$ (normal: $0,027-0,13$). En el diagnóstico

de RHTE, la ratio T_3/T_4 estaba disminuida en 3/11 pacientes, con una media de $14 \pm 6,4$ (normal: $11,3-15,3$), la T_3 reversa/ T_4 estaba aumentada en 8/10 pacientes (media: $0,66 \pm 0,3$; normal: $0,43-0,49$), y la T_3/T_3 reversa, invariablemente disminuida en todos los pacientes (media: $2,6 \pm 1$; normal: $7,6-8,4$). La dosis de levotiroxina varió entre $1,87$ y $5 \mu\text{g/kg/día}$. El polimorfismo Ala92-DIO2 estaba presente en homocigosis sólo en dos pacientes. Las variantes genéticas identificadas apuntan a posibles defectos de estrés de retículo endoplásmico o lisosómico, o bien al polimorfismo Ala92-DIO2 en homocigosis como probable hipótesis patógena en el 60% de los pacientes.

Por tanto, la resistencia al tratamiento con levotiroxina existe en niños hipotiroideos de diferentes etiologías. La mitad presenta hipotiroidismo congénito, y el resto, adquirido. La ratio T_3/T_4 puede hallarse normal dependiendo de la tirotrópina concomitante (que incrementa selectivamente la secreción de T_3 por parte de la tiroides) y la intensidad del exceso de dosis de levotiroxina en el momento del diagnóstico. Los pacientes con RHTE serían candidatos a tratamiento combinado con $T_4 + T_3$.

Conclusiones

En el momento actual, considerando un solo centro de referencia en hipotiroidismo congénito en España, la cohorte de RHTE pediátrica incluye a un total de 22 niños. Esta nueva cohorte se suma a los niños diagnosticados previamente en nuestro trabajo⁽⁶⁾ y otros con presentación posterior a este resumen. La

participación de todos los centros hospitalarios españoles comprometidos con el proyecto será muy útil para aproximar una prevalencia nacional de esta patología en relación con la prevalencia global de hipotiroidismo congénito en nuestro país.

El análisis genético específico de esta cohorte ampliada de niños con RHTE está en curso y apunta a defectos diferentes a los que hemos hallado hasta el momento en adultos, con mutaciones en el gen *DIO1*, y apunta a una base genética diferenciada de la RHTE en adultos. El inicio del ensayo clínico aguarda la aceptación de la llegada de los medicamentos combinados de $T_3 + T_4$ en distintas proporciones (inicialmente 1:4 para $T_3:T_4$) y del uso de la chaperona con otra indicación a la aceptada en pediatría en España (en curso desde la Comunidad de Madrid).

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses potenciales.

©Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica (<https://www.seep.es>). Publicado por Evidence Health España, S.L.U. (<https://www.evidenze.com>).

Artículo Open Access bajo licencia CCBY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Bibliografía

1. Krude H, Kühnen P, Biebermann H. Treatment of congenital thyroid dysfunction: achievements and challenges. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015; 29: 399-413.
2. Wiersinga WM, Duntas L, Fadeyev V, Nygaard B, Vanderpump MP. 2012 ETA Guidelines: the use of L-T4 + L-T3 in the treatment of hypothyroidism. *Eur Thyroid J* 2012; 1: 55-71.
3. Jonklaas J, Bianco AC, Bauer AJ, Burman KD, Cappola AR, Celi FS, et al. Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the American Thyroid Association task force on thyroid hormone replacement. *Thyroid* 2014; 24: 1670-751.
4. Castagna MG, Dentice M, Cantara S, Ambrosio R, Maino F, Porcelli T, et al. DIO2 Thr92Ala reduces deiodinase-2 activity and serum-T3 levels in thyroid-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102: 1623-30.
5. Jo S, Fonseca TL, Bocco BMLC, Fernandes GW, McAninch EA, Bolin AP, et al. Type 2 deio-

dinase polymorphism causes ER stress and hypothyroidism in the brain. *J Clin Invest* 2019; 129: 230-4.

6. Lacámara N, Lecumberri B, Barquiel B, Escribano Muñoz A, González-Casado I, Alvarez-Escolá C, et al. Identification of resistance to exogenous thyroxine in humans. *Thyroid* 2020; 30: 1732-44.