

Retos del laboratorio de cribado neonatal en la detección del hipotiroidismo congénito central

Challenges of the newborn screening laboratory in the detection of central congenital hypothyroidism

Rosa M.^a López Galera^{1,2}, Abraham José Paredes Fuentes¹, Ana Argudo Ramírez^{1,2}, José Manuel González de Aledo Castillo^{1,2}, Judit García-Villoria^{1,2,3}

¹ Laboratorio de Cribado Neonatal. Sección de Errores Congénitos del Metabolismo-IBC. Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic de Barcelona

² IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer)

³ CIBER de Enfermedades Raras, Madrid.

Introducción

Las hormonas tiroideas son fundamentales para un desarrollo cerebral normal, y el hipotiroidismo congénito (HC) es la causa más frecuente de deterioro cognitivo que se puede prevenir. El daño cerebral depende directamente del tiempo transcurrido desde el comienzo del hipotiroidismo y del tratamiento, por lo que los recién nacidos que se detectan e inician tratamiento en los primeros días de vida llegan a alcanzar un cociente intelectual normal o casi normal, reduciendo la morbilidad, la mortalidad y las posibles discapacidades asociadas a dicha enfermedad. La detección precoz del HC es de interés principal en salud pública y medicina preventiva, y por ello está incluida en los programas de cribado neonatal. Los primeros programas se iniciaron en 1970 y a lo largo de estas décadas han demostrado su eficacia en la historia natural de la enfermedad, contribuyendo, en gran medida, a la mejora en el diagnóstico. La mayoría de los programas de cribado neonatal va orientada a la detección del HC primario basado en una concentración elevada de tirotrópina (hormona estimulante de la tiroides [TSH]) por su gran sensibilidad y especificidad. Actualmente ya se están realizando estrategias dirigidas

no sólo a la detección del HC primario, sino también al HC central (HCC), que puede beneficiarse de un diagnóstico temprano. El mejor marcador para el HCC sería la tiroxina libre (T_4L), pero, al no disponer de este marcador para su análisis en la sangre seca, su detección se basa en la tiroxina total (T_4t), donde concentraciones disminuidas de T_4t llevan a sospechar HCC. Se han descrito en la bibliografía resultados de programas de cribado neonatal para el HCC con un significativo número de casos de falsos positivos y varios falsos negativos. Entre diversas causas para falsos positivos está la deficiencia de tiroglobulina (TGB), que produce una disminución de T_4t en combinación con una TSH normal. El reto de los laboratorios de cribado neonatal en la detección del HCC está en optimizar las estrategias aplicando distintos puntos de corte y algoritmos de decisión con el objetivo de disminuir la tasa de falsos positivos, así como evitar en lo máximo posible los casos de falsos negativos.

Hipotiroidismo congénito

El HC se define como la situación resultante de una disminución de la actividad biológica de las hormonas tiroideas a nivel tisular, causada por una producción deficiente o por resistencia a su acción en los tejidos diana, alteración de su transporte o de su metabolismo ⁽¹⁾. El HC puede ser permanente o transitorio. El HC permanente se clasifica en tres grandes grupos ⁽²⁾:

Correspondencia:

Rosa M.^a López Galera
Servicio de Bioquímica y Genética Molecular
Hospital Clínic de Barcelona, rmlopez@clinic.cat

- Primario o tiroideo: la causa está en la propia glándula tiroidea.
- Hipotalámico-hipofisario o central: el trastorno está localizado en la hipófisis, produciéndose un déficit de TSH, o en el hipotálamo, generándose en este caso una disminución de la producción de hormona liberadora de tirotropina.
- Periférico: se debe a una resistencia generalizada de los tejidos diana a las hormonas tiroideas.

Hipotiroidismo congénito central

El HCC se considera una patología de gran complejidad etiológica, diagnóstica y pronóstica, debido a una falta de precisión de los parámetros clínicos y bioquímicos empleados para su diagnóstico y manejo ^(3,4). El HCC se produce por una estimulación insuficiente de la tiroides debido al funcionamiento alterado del eje hipofisario y/o hipotalámico ^(3,4).

Diversos estudios muestran que la mitad de los casos de HCC presentan un carácter leve no asociado con un mayor riesgo de daño cerebral. Sin embargo, algunos HCC pueden ser moderados e incluso graves, con sintomatología variable, desde una clínica inespecífica o asintomática o retraso en el crecimiento, hasta afectación del desarrollo neurológico ⁽⁵⁾. En estos casos, un diagnóstico tempra-

no podría mejorar la calidad de vida del paciente y, por tanto, evitar daños irreversibles ^(3,6).

El HCC puede deberse a causas genéticas o ser adquirido, mientras que su curso puede ser transitorio o permanente ⁽⁷⁾ (Tabla 1):

Tras su diagnóstico confirmatorio, es importante iniciar la intervención terapéutica inmediatamente para restaurar el nivel de las hormonas tiroideas y facilitar así el desarrollo neurocognitivo normal del niño. Se estima que para evitar el desarrollo de cretinismo en formas graves de HCC, el tratamiento con levotiroxina ha de iniciarse antes de la sexta semana de vida. La frecuente asociación del HCC con otras deficiencias de hormonas hipofisarias e insuficiencia suprarrenal y la complejidad de la patología hacen necesaria la sospecha clínica ante cualquier posible indicio de ella ^(3,4,6).

Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito en el mundo

El cribado neonatal para el HC se inició en los años setenta a nivel mundial y, desde entonces, ha sido la prueba de referencia para diagnosticar de manera precoz esta patología, consiguiendo reducir significativamente las secuelas neurológicas derivadas de ella.

Antes de la llegada de los programas de cribado neonatal, el HC se diagnosticaba de forma tardía y

Tabla 1. Hipotiroidismo congénito central.

Hipotiroidismo congénito central		
Hipotiroidismo congénito central (hipotalámico-hipofisario)	Deficiencia de hormona liberadora de tirotropina	Adquirida o esporádica
	Alteraciones en inmunoglobulinas ligadas al cromosoma X	Genética: genes miembro 1 superfamiliar/ <i>GSF1</i>
	Deficiencia aislada de tirotropina	Adquirida o esporádica Genética: genes <i>IGSF1</i> , genes <i>TRH-R</i> , subunidades <i>βTSH</i>
	Deficiencia de tirotropina combinada con alteraciones de otras hormonas adenohipofisarias (panhipopituitarismo)	Adquirido o esporádico Genético, genes: • <i>POUF1</i>: <i>TSH</i>, <i>GH</i>, <i>PRL</i> • <i>PROP1</i>: <i>TSH</i>, <i>GH</i>, <i>PRL</i>, <i>LH</i>, <i>FSH</i> • <i>LHX3</i>: <i>TSH</i>, <i>GH</i>, <i>PROL</i>, <i>LH</i>, <i>FSH</i> • <i>LH4</i>: <i>TSH</i>, <i>GH</i>, <i>PROL</i>, <i>LH</i>, <i>FSH</i>, <i>ACTH</i>

a través de la clínica. La incidencia de la enfermedad previa a la aplicación del cribado neonatal oscilaba entre 1:7.000-1:10.000, aumentó hasta 1:3.000-1:4.000 tras su instauración y en la actualidad se sitúa entre 1:1.400-1:2.800.

En Europa, la estrategia más utilizada en el cribado es la determinación primaria de la TSH basada en una especificidad mayor en la detección del HC. La mayor sensibilidad de las técnicas de medición de la TSH actualmente empleadas y el ajuste de los puntos de corte hacen que su tasa de falsos negativos y falsos positivos sea notablemente menor⁽⁸⁾. No obstante, en los Países Bajos se aplica la combinación de TSH + T₄t + TGB para detectar tanto el HC primario como el HCC. En cambio, en Norteamérica, Australia y Asia, la determinación primaria de T₄t es la que se utiliza más, aunque muchos programas de cribado han empezado a reevaluar su estrategia y algunos han modificado su abordaje diagnóstico para decidir si su objetivo es detectar casos sólo de HC primario o bien casos de HC primario y otros trastornos tiroideos. Este hecho se debe, en parte, a que el objetivo más importante del cribado neonatal es detectar a niños con HC primario. En todas las comunidades autó-

nomas de España, la detección precoz del HC se lleva a cabo mayormente por medición primaria de la TSH, excepto en tres (País Vasco, Cantabria y Navarra), que utilizan la estrategia combinada de TSH y T₄t para la detección conjunta del HC primario y el central.

Aunque inicialmente la prevalencia para el HCC se estimó en 1:100.000 recién nacidos, en la actualidad diversas investigaciones clínicas ponen de relieve la importancia de la incipiente incidencia, que se cree subestimada, y se obtienen incidencias de 1:16.000-1:20.000 recién nacidos en los nuevos programas de cribado en los que se incluyen determinaciones múltiples^(9,10).

Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito central

Los programas de cribado neonatal que incluyen la detección del HCC además de la del HC primario utilizan la combinación de los dos marcadores, TSH y T₄t, en diferentes estrategias⁽¹¹⁾ (Tabla 2). Las primeras semanas de vida del recién nacido son fundamentales en la detección e instauración del trata-

Tabla 2. Programas de Cribado Neonatal para HCC.

País	Estrategia de sangre en papel	Período de días de vida recién nacido	Valores de referencia
Italia ¹⁹ (programa regional del noroeste)	T ₄ t+TSH	3-5 días	T ₄ t < 40 nmol/L
Japón ¹³⁻¹⁵ (programa regional de Saboro)	T ₄ L+TSH	4-6 días	T ₄ L < 0,5 ng/dL (1. ^a M) T ₄ L < 1,0 ng/dL (2. ^a M)
España ¹⁸ (programa regional del País Vasco, Cantabria y Navarra)	T ₄ t+TSH	48 horas	T ₄ t ≤ 6 µg/dL
Argentina ¹⁰ (programa regional piloto)	T ₄ t+TSH	2-7 días	T ₄ t ≤ 4,5 µg/dL
Estados Unidos ¹⁷ (programa regional varios estados)	T ₄ t+TSH T ₄ t (1. ^a) + TSH (2. ^a)	1 semana a 1 mes de vida	Varios <i>cutoff</i>
Estados Unidos ²⁰ (programa regional del noroeste)	T ₄ t (1. ^a) + TSH (2. ^a)	1-2 días (1. ^a M) 10-14 días (2. ^a M)	T ₄ t < percentil 10
Israel ²¹ (programa nacional)	T ₄ t (1. ^a) + TSH (2. ^a)	48-72 horas	T ₄ t < percentil 10
Países Bajos ²²⁻²⁴ (programa nacional)	T ₄ t (1. ^a) + TSH/TGB (2. ^a)	4-7 días	T ₄ t ≤ 3SD y TGB > 40 nmol/L T ₄ t < 1.6 SD y ratio T ₄ t/TGB ≤ 17

1.^a M: primera muestra; 2.^a M: segunda muestra; T₄L: tiroxina libre; T₄t: tiroxina total; TSH: tirotrópica; TGB: tiroglobulina.

miento de las formas moderadas y graves del HCC, que se presenta normalmente con concentraciones disminuidas de T₄t y bajas o normales de TSH.

Las técnicas de laboratorio actuales para la detección en muestra de sangre seca en papel de la TSH y la T₄, entre las cuales se incluyen el inmunoensayo enzimático y el fluoroinmunoensayo, han mejorado notablemente en los últimos años y han adquirido el potencial para una mejor diferenciación entre los valores normales y anormales de TSH y T₄t, aunque la sensibilidad y la especificidad son mayores para la TSH que para la T₄t⁽¹²⁾.

Estrategia de determinación primaria combinada de TSH y T₄

Este método se basa en la determinación de TSH y T₄t en todas las muestras de sangre de talón mediante dos técnicas distintas, ya que, si se utiliza un mismo reactivo con anticuerpos para ambas hormonas, disminuye mucho la sensibilidad para ambas. Con esta estrategia se detecta tanto el HC primario como el HCC.

La T₄t resulta una determinación menos sensible que la T₄L para evaluar el hipotiroidismo, debido a que está influenciada por las concentraciones de TGB y triyodotironina, aumentando el número de falsos positivos (deficiencias congénitas de TGB). El problema de la determinación de T₄L radica en la dificultad técnica que tiene su cuantificación debido a la necesidad de una mayor cantidad de sangre que la que se puede aislar de la toma de muestra obtenida en papel de filtro, lo que condiciona que la muestra del paciente debería ser de suero para poder analizarla. Actualmente, la determinación de TSH y T₄L en la misma muestra de sangre sólo está instaurada y disponible en una zona geográfica de Japón por métodos de enzaimmunoensayo adaptados para la T₄L, con una tasa de falsos positivos y falsos negativos inferior que la de los programas de cribado neonatal que utilizan la T₄t para la detección del HCC, con una incidencia global en este programa de aproximadamente 1 en cada 31.000 neonatos⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Un resultado de T₄t bajo, junto con una TSH baja, plantea un diagnóstico diferencial de HCC, deficiencia de TGB o síndrome del enfermo eutiroides, que se dan en prematuros o recién nacidos de bajo peso al nacer por inmadurez hipotalámica; los dos últimos pueden ser falsos positivos del cribado y, por otro lado, pueden ser falsos negativos si el límite de decisión de la T₄t no está bien establecido^(10,16-18).

En España hay 17 comunidades autónomas y 15 laboratorios de cribado neonatal; esta estrategia se

aplica en los programas de cribado neonatal de las comunidades autónomas del País Vasco, Navarra y Cantabria por técnicas de inmunoensayos para las dos determinaciones. Se realiza la determinación de TSH y T₄t aplicando distintos puntos de corte en función de si se detecta HC primario o central⁽¹⁸⁾.

Estrategia de determinación primaria de T₄ con ampliación posterior de TSH

Es la estrategia más utilizada fuera del continente europeo para la detección de HC primario y central, sobre todo en Estados Unidos^(17,20) e Israel⁽²¹⁾; consiste en la determinación inicial de la T₄t con medición adicional de la TSH en los pacientes en los que las concentraciones de T₄t detectadas se hayan encontrado por debajo del límite inferior determinado por el laboratorio correspondiente. Con esta estrategia se van a detectar, como en la anterior, las deficiencias de TGB que cursan con valores bajos de T₄t, la incidencia de las cuales oscila entre alrededor de 1:5.000-10.000 y 1:50.000, respectivamente, lo que va a comportar una elevada tasa de falsos positivos⁽¹⁷⁾.

Estrategia de determinación primaria de T₄ con ampliación de TSH y TGB

Los algoritmos de cribado neonatal de algunos países, como los Países Bajos, incluyen la determinación inicial primaria de T₄t con el método adicional de la TSH y la TGB en la misma muestra de sangre en los casos en los que la T₄t se encuentre por debajo del límite inferior de normalidad establecido por cada laboratorio. Lo que permite este protocolo es calcular la ratio T₄t/TGB como medida indirecta de la concentración de T₄L, aproximación fiable y muy sensible, y detectar de manera eficaz el HC primario, al mismo tiempo que ha supuesto una mejora de la eficacia del diagnóstico de HCC junto con una reducción de los falsos positivos tanto en caso de hipotiroidismo como de hipertirotoxinemia. Con esta estrategia, la eficacia de la detección del HCC se ha triplicado, y se ha objetivado que el HCC alcanza una prevalencia mucho mayor de lo que se estimaba, alcanzando 1:16.000-1:21.000 recién nacidos⁽²²⁻²⁴⁾.

Retos del laboratorio de cribado neonatal en la detección del hipotiroidismo congénito central

El reto de los laboratorios de cribado neonatal en la detección del HCC está en optimizar las estrategias aplicando distintos puntos de corte y algoritmos de decisión con el objetivo de disminuir la

tasa de falsos positivos, así como evitar en lo máximo posible los casos de falsos negativos.

Un estudio reciente incide en la importancia de establecer diferentes intervalos de referencia para la T₄t en muestras de sangre en papel para cribado neonatal en función de la edad gestacional y/o el peso para reducir la tasa de falsos positivos y falsos negativos, aunque se necesitarían más estudios con muestras poblacionales más grandes para poder establecer intervalos correctos ⁽²⁵⁾.

La estrategia adoptada en los Países Bajos mediante la detección de tres marcadores, como la TSH, la T₄t y la TGB, en su programas de cribado neonatal para el HC ha demostrado reducir la tasa de falsos positivos, pero no está exenta de evitar casos de falsos negativos ⁽²²⁻²⁴⁾; por otro lado, la determinación de tres marcadores supone una complejidad y un alto coste para el programa en relación con el coste-beneficio.

El mejor marcador para el HCC sería la T₄L; el problema de la determinación de la T₄L radica en la dificultad técnica que tiene su cuantificación debido a la necesidad de una mayor cantidad de sangre que la que se puede aislar de la toma de una muestra obtenida en papel de filtro, lo que condiciona que la muestra del paciente debería ser de suero; sin embargo, el programa de cribado neonatal para el HC que se realiza en Japón utiliza la estrategia de detección simultánea de TSH y T₄L en la sangre en papel mediante un método de enzima-inmunoensayo con unos resultados óptimos y más eficaces que cuando utilizaba sólo la estrategia con TSH, identificando de esta forma tanto los HC primarios como los de origen central, con una tasa muy baja de falsos positivos y sin apenas falsos negativos ⁽¹³⁻¹⁵⁾. En nuestro país, en la última ponencia de cribado del HC por parte del Ministerio de Sanidad celebrada en septiembre de 2020, se recomienda la detección del HCC en los programas de cribado neonatal de HC.

Es necesario plantear como uno de los retos del laboratorio de cribado neonatal líneas de investigación para que en un futuro inmediato se desarrollen técnicas para la detección de la T₄L en muestras de sangre en papel que mejorarían la sensibilidad/especificidad de la detección del HCC y que podrían aplicarse a todos los programas de cribado neonatal de HC.

Bibliografía

1. Rodríguez A, Chueca MJ, Alija M, Ares S, Moreno JC, Rodríguez-Arnao MD. Diagnosis and follow-up of patients with congenital
2. Grupo de trabajo de la guía de práctica clínica de hipotiroidismo congénito. Guía de práctica clínica de hipotiroidismo congénito. Santiago de Compostela: Consellería de Sanidad, Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia, avalia-t; 2008.
3. Persani L, Brabant G, Dattani M, Bonomi M, Feldt-Rasmussen U, Fliers E, et al. European Thyroid Association (ETA) guidelines on the diagnosis and management of central hypothyroidism. *Eur Thyroid J* 2018; 7: 225-37.
4. Persani L, Cangiano B, Bonomi M. The diagnosis and management of central hypothyroidism in 2018. *Endocr Connect* 2019; 8: 44-54.
5. Zwaveling-Soonawala N, van Trotsenburg AS, Verkerk PH. The severity of congenital hypothyroidism of central origin should not be underestimated. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: 297-300.
6. Van Trotsenburg P, Stoupa A, Léger J, Roher T, Peters C, Fugazzola L, et al. Congenital hypothyroidism: a 2020-2021 Consensus Guidelines Update-an ENDO-European reference Network Initiative Endorsed by the European Society for pediatric Endocrinology ante the European Society for Endocrinology. *Thyroid* 2021; 31: 387-419.
7. García M, Moreno JC. Hipotiroidismo congénito central: nuevos fenotipos, nuevos genes. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2013; 4: 57-69.
8. Mehran L, Khalili D, Yarahmadi S, Amouzegar A, Mojarad M, Ajang N, et al. Worldwide recall rate in newborn screening programs for congenital hypothyroidism. *Int J Endocrinol Metab* 2017; 15: e55451.
9. Rodríguez A, Sanz M, Dulín E, Rodríguez-Arnao MD. Cribado neonatal en enfermedades endocrinológicas. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2017; 8: 47-61.
10. Braslavsky D, Méndez MV, Prieto L, Keselman A, Enacan R, Gruñeiro-Papendieck L, et al. Pilot neonatal screening program for central congenital hypothyroidism: evidence of significant detection. *Horm Res Paediatr* 2017; 88: 274-80.
11. Lauffer P, Zwaveling-Soonawala N, Naafs JC, Boelen A, van Trotsenburg ASP. Diagnosis and management of central congenital hypothyroidism. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021; 12: 1-16.

12. Léger J, Olivieri A, Donaldson M, Torresani T, Krude H, van Vliet G, et al. European Society for Paediatric Endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism. *Horm Res Paediatr* 2014; 81: 80-103.
13. Fujiwara F, Fujikura K, Okuhara K, Tsubaki J, Fukushi M, Fujita K, et al. Central congenital hypothyroidism detected by neonatal screening in Sapporo, Japan (2000-2004): its prevalence and clinical characteristics. *Clin Pediatr Endocrinol* 2008; 17: 65-9.
14. Adachi M, Soneda A, Asakura Y, Muroya K, Yamagami Y, Hirahara F. Mass screening of newborns for congenital hypothyroidism of central origin by free thyroxine measurement of blood samples on filter paper. *Eur J Endocrinol* 2012; 166: 829-38.
15. Soneda A, Adachi M, Muroya K, Asakura Y, Yamagami Y. Overall usefulness of newborn screening for congenital hypothyroidism by using free thyroxine measurement. *Endocr J* 2014; 1: 1025-30.
16. Nebesio TD, McKenna MP, Nabhan ZM, Eugster EA. Newborn screening results in children with central hypothyroidism. *J Pediatr* 2010; 156: 990-3.
17. Connelly KJ, Pierce MJ, Hanna C, Lafranchi SH. Detecting congenital central hypothyroidism by newborn screening: difficulty in distinguishing from congenital thyroxine-binding globulin deficiency. *Horm Res Paediatr* 2017; 88: 331-8.
18. Grau G, Fernández M, Artola E, Sarasua A, Lizarralde E, Pintos C, et al. Diagnosis of central congenital hypothyroidism and multiple pituitary deficiencies through a neonatal screening program. *Horm Res Paediatr* 2019; 92: P2-79.
19. Zamboni G, Zaffanello M, Rigon F, Radetti G, Gaudino R, Tato L. Diagnostic effectiveness of simultaneous thyroxine and thyroid stimulating hormone screening measurements. Thirteen years' experience in the Northeast Italian screening programme. *J Med Screen* 2004; 11: 8-10.
20. Kilberg MJ, Rasooly IR, LaFranchi SH, Bauer AJ, Hawkes CP. Newborn screening in the US may miss mild persistent hypothyroidism. *J Pediatr* 2018; 192: 204-8.
21. Tenenbaum-Rakover Y, Almashanu S, Hess O, Admoni O, Hag-Dahood Mahameed A, Schwartz N, et al. Long-term outcome of loss-of-function mutations in thyrotropin receptor gene. *Thyroid* 2015; 25: 292-9.
22. Kempers MJ, Lanting CI, van Heijst AF, van Trotsenburg AS, Wiedijk BM, de Vijlder JJM, et al. Neonatal screening for congenital hypothyroidism based on thyroxine, thyrotropin, and thyroxine-binding globulin measurement: potentials and pitfalls. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3370-6.
23. Stroek K, Heijboer AC, Bouva MJ, van der Ploeg CPB, Heijnen MA, Weijman G, et al. Critical evaluation of the newborn screening for congenital hypothyroidism in the Netherlands. *Eur J Endocrinol* 2020; 183: 265-73.
24. Stroek K, Heijboer AC, van Veen-Sijne M, Boch AM, van der Ploeg CPB, Zwaveling-Soonawala N, et al. Improving the Dutch newborn screening for central congenital hypothyroidism by using 95% reference intervals for thyroxine-binding globulin. *Eur Thyroid J* 2021; 10: 222-9.
25. Hijman AI, Konrad D, Fingerhut R. Determining reference ranges for total T₄ in dried blood samples for newborn screening. *Int J Neonatal Screen* 2020; 6: 1-14.