



Universidad Miguel Hernández
Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología

Valores de TSH neonatal en recién nacidos pretérmino de la provincia de Alicante 2008-2012

Tesis Doctoral

Álvaro Blasco Barbero

Directores:

Ernesto Cortés Castell

Jesús Vioque López



Dr. Ildefonso Hernández Aguado, Director del Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández

CERTIFICA

Que **Álvaro Blasco Barbero** ha realizado bajo la coordinación de este Departamento su memoria de tesis doctoral titulada “**Valores de TSH neonatal en recién nacidos pretérmino de la provincia de Alicante 2008-2012**”, cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo en forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al grado de doctor.

Lo que certifico en San Juan de Alicante, a de del dos mil trece

Ildefonso Hernández Aguado

Director del Departamento

Ernesto Cortés Castell, Profesor Titular de Universidad

Jesús Vioque López, Catedrático de la Universidad Miguel Hernández

CERTIFICAN

Que **Álvaro Blasco Barbero**, Licenciado en Farmacia por la Universidad de Sevilla ha realizado la tesis doctoral bajo nuestra dirección con el título de **“Valores de TSH neonatal en recién nacidos pretérmino de la provincia de Alicante 2008-2012”**,

Una vez revisado, el presente trabajo reúne las condiciones para ser presentado y defendido como TESIS DOCTORAL

Y para que conste a los efectos oportunos firmamos el presente certificado en Alicante a ...Mayo de 2014

Ernesto Cortés Castell Jesús Vioque López

Agradecimientos

Me siento una persona muy afortunada por tener que agradecer la ayuda de tantas personas.

“La gratitud da sentido a nuestro pasado, trae paz al presente y crea una visión para el mañana.”

A los Doctores Ernesto Cortés y Jesús Vioque por impulsarme a comenzar y desarrollar esta tesis, por ilustrarme en el método científico y por encauzar mis ganas de saber e investigar.

A las Doctoras Herminia Manero y Marisa Graells por enseñarme los conocimientos de Laboratorio Clínico de Metabolopatías y Cribado Neonatal y por su cariño y apoyo constante.

A Ana, Isabel, Luci y Enma por su inestimable ayuda técnica.

A Miriam por endulzarme la vida y hacer de cada uno de los días algo maravilloso.

A mis padres, a mi hermano Alejandro y a mis colegas de Tomares por hacerme ser la persona que soy.

A Paco, Pedro y mis abuelos, las estrellas que más brillan en el cielo.

A todos mis compañeros de Servicio.

Presentación

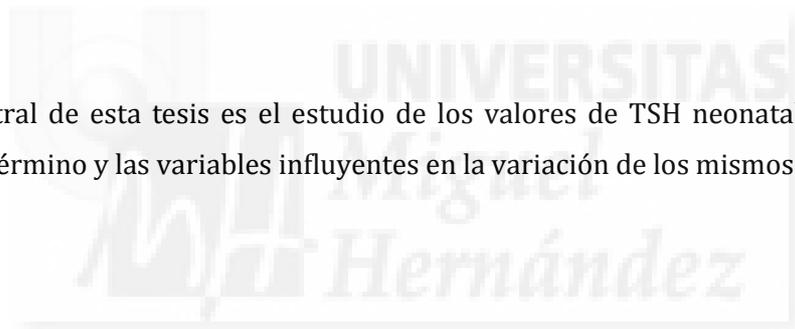
La presente tesis es el resultado del trabajo en una línea de investigación en el campo de Metabolopatías y Cribado Neonatal.

En este documento se presentan los antecedentes, justificación y objetivos del trabajo. Así mismo se describe de forma general la metodología utilizada y los resultados principales obtenidos.

También se presenta una discusión general que enlaza los principales resultados obtenidos y su comparación con los observados en la literatura relacionada.

Finalmente se presentan las conclusiones más relevantes.

El tema central de esta tesis es el estudio de los valores de TSH neonatal en los recién nacidos pretérmino y las variables influyentes en la variación de los mismos.



Summary

Background and objectives

Neonatal TSH concentration of preterm infants (RNP) differs from TSH of term infant (RNT) due to the immaturity of the hypothalamic-pituitary-thyroid system. If we take the RNT decision limits for congenital hypothyroidism (CH) to RNP, we will obtain too many false negative. Because of that it's necessary establish specific TSH reference intervals (RI) for RNP. These will allow adjust decision limits for RNP, a better understanding and approach of screening of HC in this population group.

Methods

A cross-sectional study of all preterm infants (n = 6,526 RNP) in the province of Alicante is performed in a full five years (2008-2012) with dried blood samples obtained on paper of Generalitat Valenciana screening program of congenital metabolic disorders, analyzing the TSH of the double screening and collecting anonymously the followings variables: gestational age, birth weight, sex, twin, mother's age, days of life in cold extraction and birth month. As a control group we take all RNT of the same period (n = 79,019), excluding the HC. HC incidence in each group was analyzed, the differences between the TSH of RNT and RNP was also analyzed and the TSH distribution depending of days of life. To calculate the TSH IR of RNP we analyzed the influence of the collecting variables on the changes of TSH. IR performed according to the influential variables.

Results

A higher incidence of HC is observed in RNP (0.092 %) than in RNT (0.047 %), the difference of concentration of TSH is 0,22 mU/ml less in RNP and a similar distribution of TSH according days of life are observed in both groups. The highest prematurity degree have lower concentrations of TSH, increasing 0,06 mU/ml TSH for each gestational week. The RNP low birth weight (< 1500 g) have 0,28 mU/ml TSH lower than not low birth weight, born at coldest month have 0,10 mU/ml TSH increased than not born in the coldest month and sample early extracted (< 2 days) showed increasing 1,03 mU/ml TSH of not early. No significant differences in TSH were observed by sex, age of mother and being twin. IR were performed by groups of prematurity degree, subdividing into subgroups according to the influential variables: cold month and low birth weight (< 1500 g).

Conclusions

The TSH IR of RNP calculated, may be used in clinical practice, after adequate validation, allowing adjust specific TSH limits RNP decision after use and better interpretation of screening in RNP.

Resumen

Antecedentes y objetivos

La concentración de TSH neonatal de los recién nacidos pretérmino (RNP) difiere de la de los recién nacidos a término (RNT) debido a la inmadurez de su sistema hipotálamo-hipófisis-tiroides. Este hecho hace que los límites de decisión del cribado de hipotiroidismo congénito (HC) tomados para los RNT, pueda dar lugar a falsos negativos en los RNP, haciéndose necesaria la realización de unos intervalos de referencia (IR) específicos para los RNP, que permita adecuar los límites de decisión, una mejor interpretación y abordaje del cribado de HC en este grupo poblacional.

Métodos

Se realiza un estudio transversal de todos los recién nacidos prematuros (n=6.526 RNP) en la provincia de Alicante en un periodo completo de cinco años (2008-2012) con las muestras de sangre desecada sobre papel obtenida programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana, analizándose la TSH de las muestras del doble cribado y recogiendo de forma anónima las variables: edad gestacional, peso al nacer, sexo, ser gemelo, edad de la madre, días de vida en la extracción y mes frío al nacer. Como grupo control se utilizó todos los RNT del mismo periodo (n= 79.019), excluyéndose del estudio los HC. Se analizó la incidencia de HC en cada grupo, si existían diferencias en la TSH entre ellos y la distribución de TSH según días de vida en ambos. Para el cálculo de los IR de los RNP se analizó la influencia de las variables sobre la TSH y la evolución de TSH intrasujeto, realizándose los IR en función de las variables influyentes.

Resultados

Se observa una incidencia mayor de HC en RNP (0,092%) que en RNT (0,047%), una diferencia de concentración de TSH de 0,22 $\mu\text{U/ml}$ menor en los RNP y una distribución similar de TSH según días de vida en ambos grupos. En los RNP se observa que los grupos con mayor grado de prematuridad tienen menores concentraciones de TSH, aumentando la TSH en 0,06 $\mu\text{U/ml}$ por cada semana gestacional cumplida. Los RNP de bajo peso al nacer (< 1500 g) poseen una TSH de 0,28 $\mu\text{U/ml}$ menor que los que no tienen bajo peso al nacer, los que nacieron en mes frío tienen una TSH de 0,10 $\mu\text{U/ml}$ mayor que los que no nacieron en mes frío y los que se extrajeron la muestra de forma temprana (<2 días) presentaron una TSH de 1,03 $\mu\text{U/ml}$ mayor que los de muestra no temprana. No se observaron diferencias significativas de TSH según sexo, edad de la madre y ser gemelo. Se realizaron IR por grupos de grado de prematuridad, subdividiéndolo en subgrupos según las variables influyentes mes frío y bajo peso al nacer (< 1500 g).

Conclusiones

Los IR de TSH en RNP calculados, podrán ser empleados en la práctica clínica, tras una validación adecuada, permitiendo adecuar unos límites de decisión específicos en RNP tras su uso y una mejor interpretación del cribado en RNP.



INDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Fisiología y función de la glándula tiroidea	3
1.1.1. Estructura	3
1.1.2. Síntesis de hormonas tiroideas	4
1.1.3. Transporte de las hormonas tiroideas	5
1.1.4. Desyodación periférica de T4.....	6
1.1.5. Regulación del eje tiroideo.....	7
1.1.6. Acción de las hormonas tiroideas	9
1.2. Fisiología y función tiroidea fetal	10
1.2.1. Embriología de la glándula tiroides.....	10
1.2.2. Función tiroidea fetal	10
1.2.3. Función tiroidea neonatal	14
1.3. Función tiroidea en prematuros	15
1.3.1. Prematuros, grupo poblacional.....	15
1.3.2. Función tiroidea	18
1.4. Cribado del Hipotiroidismo congénito.	24
1.4.1. Hipotiroidismo congénito.....	24
1.4.2. Incidencia	28
1.4.3. Programas de cribado neonatal	30
1.4.4. Controversias del cribado de prematuros.....	31
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	34
2.1. Función tiroidea diferente en RNP respecto a RNT	34
2.2. Necesidad de intervalos de referencia de TSH específicos para RNP	34
2.3. Necesidad de intervalos de referencia de TSH específicos para cada laboratorio.	36
3. OBJETIVOS	40
3.1. Objetivo principal	40
3.2. Objetivos secundarios	40
4. MÉTODOS	44
4.1. Población	44
4.1.1 Tipo de estudio.....	44
4.1.2 Criterios de inclusión y de exclusión	45

4.1.3 Definición de subgrupos.....	46
4.1.4 Tamaño muestral	49
4.2. Método del estudio.....	50
4.2.1 Información y Consentimiento Informado.....	50
4.2.2 Extracción de muestras y recogida de datos demográficos.....	50
4.2.3 Recepción de las muestras, identificación y registro informático	52
4.2.4 Procesamiento de las muestras	53
4.2.5. Interpretación de los resultados y protocolo de actuación	59
4.3 Realización de la base de datos.....	61
4.3.1 Recogida de variables.....	61
4.3.2 Depuración de la base de datos	61
4.3.3. Base de datos primaria y bases de datos secundarias	62
4.3.4. Calidad de los datos: valores perdidos.....	63
4.4 Análisis estadístico	65
4.5 Consideraciones ético-legales	68
5. RESULTADOS	72
5.1. Características descriptivas de la población	72
5.1.1 Descriptivos RNP vs RNT	72
5.1.2 Descriptivos RNP	73
5.2. Comparación de TSH entre prematuros y nacidos a término.....	75
5.2.1. Prevalencia global (Incidencia acumulada en periodo) de hipotiroidismo congénito en prematuros y nacidos a término	75
5.2.2. Comparación de concentración de TSH entre prematuros y nacidos a término.....	75
5.2.3. TSH según días de vida en prematuros y nacidos a término	77
5.3. Análisis de las variables implicadas en la variación de la concentración de TSH en prematuros.....	79
5.3.1. Variación de TSH según el grado de prematuridad.....	79
5.3.2. Variación de TSH según el peso al nacer	82
5.3.3. Variación de TSH según los días de vida	86
5.3.4. Variación de TSH según el sexo	94
5.3.5. Variación de TSH según ser gemelos o no.....	96
5.3.6. Variación de TSH según edad de la madre.....	97
5.3.7. Variación de TSH según mes frío o no.....	98
5.4. Análisis multivariable de TSH	100
5.5. Evaluación de la maduración del eje tiroideo: evolución de TSH intrasujeto.....	102

5.5.1. Diagnosticados de HC en la evolución	102
5.5.2. Comparación de TSH intrasujeto en la evolución	103
5.6. Intervalo de referencia de TSH en prematuros.....	104
5.6.1 Total de prematuros.....	104
5.6.2. Extremadamente prematuros:.....	105
5.6.3 Muy prematuros:	106
5.6.4 Prematuros tardíos:	107
6. DISCUSIÓN.....	112
6.1 Análisis de las características de la población.....	112
6.2. Comparación de TSH entre prematuros y nacidos a término.....	114
6.2.1 Prevalencia de hipotiroidismo congénito en prematuros y nacidos a término.....	114
6.2.2. Comparación de concentración de TSH entre prematuros y nacidos a término....	115
6.2.3 TSH según días de vida en prematuros y nacidos a término	116
6.3 Influencia de determinadas variables en la en la concentración de TSH en RNP	118
6.3.1 Influencia de la edad gestacional en la concentración de TSH en RNP	118
6.3.2 Influencia del peso al nacer en la concentración de TSH en RNP	119
6.3.3 Influencia de los días de vida en la concentración de TSH en RNP	121
6.3.4 Influencia del sexo en la concentración de TSH en RNP	123
6.3.5 Influencia de ser gemelo en la concentración de TSH en RNP.....	124
6.3.6 Influencia de la edad de la madre en la concentración de TSH en RNP.....	125
6.3.7 Influencia del mes frío en la concentración de TSH en RNP	126
6.4 Evaluación de la maduración del eje tiroideo: evolución de TSH intrasujeto.....	127
6.5 Valores de referencia	129
7. CONCLUSIONES	135
7. BIBLIOGRAFÍA.....	140

ABREVIATURAS

DIT: diyodotirosina

FT: factores de transcripción

FT4: tiroxina libre

FT3: triyodotironina libre

HC: hipotiroidismo congénito

HGUA: Hospital General Universitario de Alicante

HHT: hipotálamo-hipófisis-tiroides

IC: intervalo de confianza

IQR: intervalo intercuartílico

IR: intervalos de referencia

MDI: desyodasa tipo 1

MDI-II: desyodasa tipo 2

MDI-III: desyodasa tipo 3

MIT: monoyodotirosina

RNEP: recién nacido extremadamente prematuro

RNMP: recién nacido muy prematuro

RNP: recién nacido prematuro

RNTP: recién nacido prematuro moderado o tardío

RNT: recién nacidos a término

SEE: síndrome del eutiroideo enfermo

T3S: triyodotironina sulfatada

T4S: tiroxina sulfatada

T2: diyodotiroxina

T3: triyodotiroxina

T4: tiroxina

TBG: globulina fijadora de tiroxina

Tg: tiroglobulina

THOP: hipotiroxinemia transitoria del prematuro

TPO: peroxidasa tiroidea

TRH: hormona liberadora de tirotropina

TRs: receptores específicos de hormonas tiroideas

TSH: tirotropina

TTR: transtiretina





1. Introducción



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Fisiología y función de la glándula tiroidea

1.1.1. Estructura

La glándula del tiroides es la glándula endocrina mayor del cuerpo humano, con un tamaño aproximado de 55 mm de diámetro longitudinal y 15 mm de grosor en la edad adulta, situada en el compartimento anterior central del cuello, debajo de la laringe y por delante de la tráquea a la que asemeja falsamente proteger. De ahí su nombre, “thyros” del griego, etimológicamente “escudo”.

Está constituida por dos lóbulos laterales, unidos por una porción central denominada istmo. En su interior contiene numerosos folículos de células rodeadas por una sustancia coloidal que contiene grandes cantidades de tiroglobulina (Tg), una glucoproteína yodada que será el precursor proteínico de las hormonas que se sintetizan en la glándula del tiroides: la tiroxina (T₄) y la triyodotironina (T₃) (Figura 1).

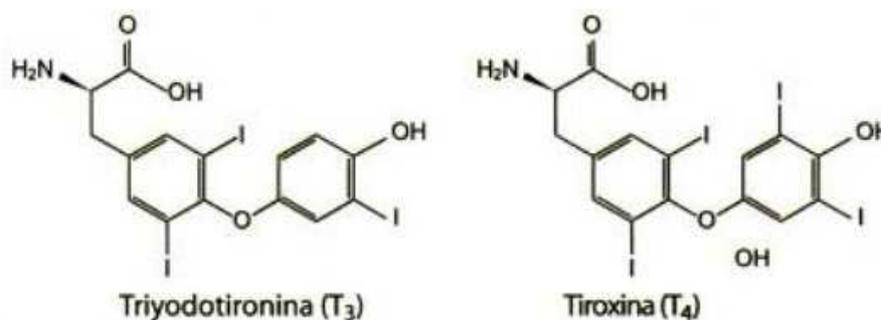


Figura 1. Estructura hormonas tiroideas (Mendoza N, 2008).

1.1.2. Síntesis de hormonas tiroideas

La síntesis de las hormonas tiroideas tiene lugar en el folículo tiroideo a partir del yodo y de los residuos de tirosina de la Tg.

El yodo circulante en la sangre en forma de yoduro, proveniente de la dieta, es captado por las células foliculares del tiroides para su oxidación por una reacción de organificación por la peroxidasa tiroidea (TPO) y peróxido de hidrógeno. El yodo oxidado produce la yodación de la Tg por sus residuos de tirosinas, dando lugar a la monoyodotirosina (MIT), que a su vez puede volver a yodarse dando lugar a la diyodotirosina (DIT).

MIT y DIT se encuentran acoplados a la Tg mediante un enlace éter, y serán los precursores de las hormonas tiroideas. La unión de dos moléculas de Tg-DIT dará lugar a la formación de la Tg-T4 y la unión de una molécula de Tg-DIT y una de Tg-MIT dará lugar a la Tg-T3 (Figura 2).

Una vez sintetizadas las hormonas tiroideas, son almacenadas en el coloide folicular hasta que es necesaria su secreción. En ese momento se produce una proteólisis por las proteínas lisosomales (cisteína-proteinasa y endopeptidasa) con la consiguiente liberación de T4, T3, MIT y DIT (Braverman L, 2013) al torrente sanguíneo.

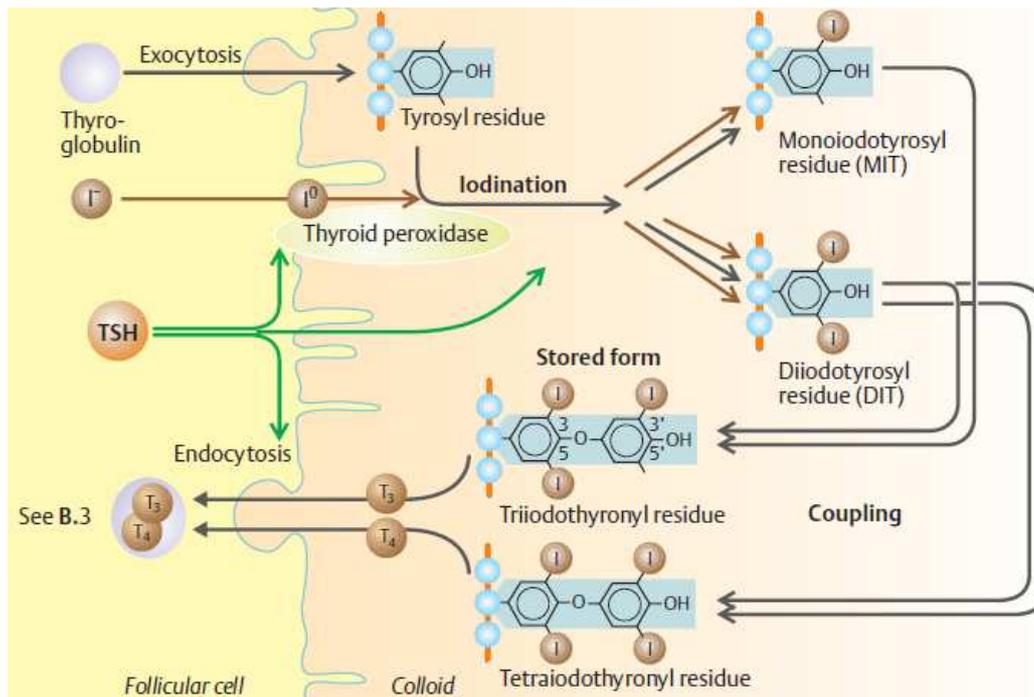


Figura 2. Síntesis de hormonas tiroideas (Despopoulos A, 2001)

Al mismo tiempo, se produce una recaptación de la Tg al interior de la célula del folículo tiroideo, y se desyodan las moléculas de MIT y DIT no acopladas por acción de la enzima deshalogenasa, reciclándose el yoduro que no se utilizó en la síntesis de las hormonas tiroideas.

En este proceso la glándula del tiroides secreta aproximadamente 20 veces más T₄ que T₃.

1.1.3. Transporte de las hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas son transportadas en sangre unidas a proteínas. Las funciones de las proteínas séricas de unión consisten en aumentar la reserva de hormona circulante, retrasar la depuración hormonal y regular el suministro de hormonas a determinadas regiones tisulares (Longo DL, 2012)

La T₄ se une principalmente a la globulina fijadora de tiroxina (TBG), que transporta las dos terceras partes de esta hormona, a la transtiretina (TTR) que

transporta aproximadamente un 10% de T4 y en menor medida y con una unión menos específica, a la albúmina. La T3 posee en general, una menor afinidad de unión proteica que la T4, uniéndose principalmente a la TBG y a la TTR.

Sólo el 0,15% de la T4 y 0,3% de la T3 sérica circulan en forma libre (FT4 y FT3), es decir, no unidas a proteínas. Constituirán las formas activas de la hormona por lo que los mecanismos homeostáticos que regulan el eje tiroideo están dirigidos al mantenimiento de las concentraciones normales de hormonas libres.

1.1.4. Desyodación periférica de T4

La T4, cuya concentración en sangre es 10 veces superior a T3, es considerada una prohormona ya que el 80% de la T4 se convierte en T3, que es la hormona activa, por acción de las desyodasas (Gereben B, 2008).

La acción de la desyodasas, además de la conversión de T4 en la hormona activa T3, tendrá como objetivo transformar ambas en moléculas inactivas, T3 inversa o reversa (rT3) y diyodotironina (T2) (Gatracsós E, 2007), evitando así la concentración excesiva de hormonas tiroideas.

Existen tres tipos de desyodasas (Figura 3):

-La desyodasa tipo 1 (MID-I), que se localiza principalmente en la glándula en la glándula tiroides, el hígado y el riñón, tiene una afinidad más o menos baja por la T4.

-La desyodinasas tipo 2 (MDI-II) tiene mayor afinidad por la T4 y se encuentra por lo general en la hipófisis, el encéfalo, la grasa parda y la glándula tiroides y permite regular localmente las concentraciones de T3.

- La desyodinasas tipo 3 (MDI-III) inactiva la T4 y la T3 y es la fuente más importante de rT3 inversa.

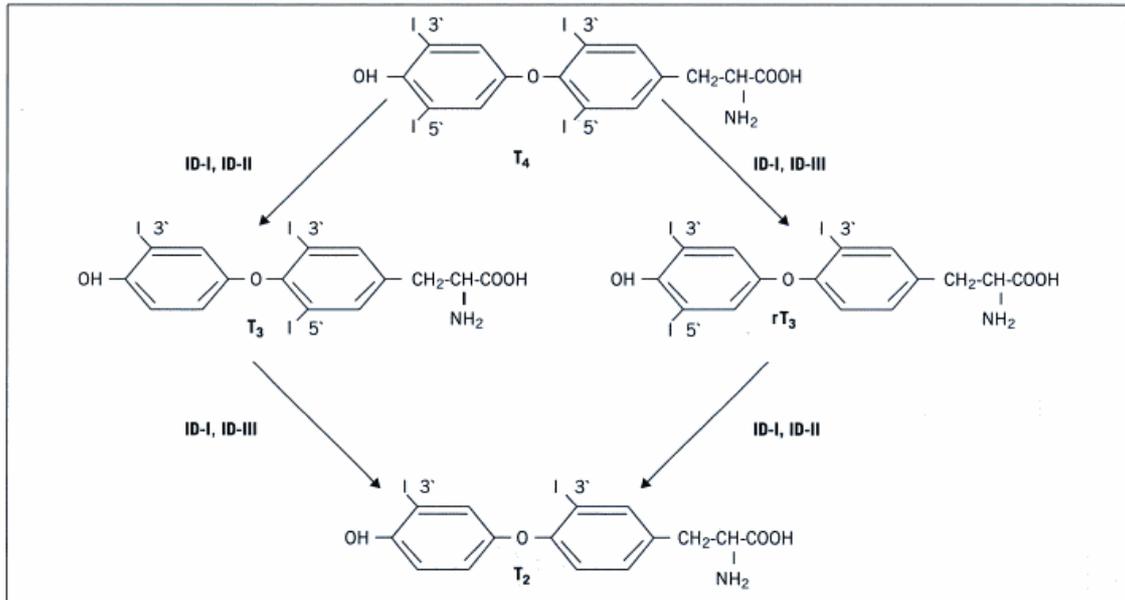


Figura 3. Desyodación de las hormonas tiroideas (ID-I: MDI-I; ID-II: MDI-II; ID-III: MDI-III) (Gatracs E, 2007)

1.1.5. Regulación del eje tiroideo

La síntesis y liberación de las hormonas tiroideas se lleva a cabo mediante un proceso de retroalimentación hipotálamo-hipófisis-tiroides (HHT).

El hipotálamo secreta la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) que llega al sistema venoso portal hipotálamo-hipófisis y estimula la transducción de señales que promueven la síntesis y liberación de la tirotrópina (TSH) en la hipófisis, la cual, a su vez, aumenta el tamaño, actividad y la vascularización de la glándula del tiroides, modulando la captación de yodo y estimulando la síntesis de hormonas tiroideas (Chiamolera MI, 2009).

El aumento de las concentraciones de T4 y de T3, especialmente de T4, producirán una retroalimentación negativa que inhibe tanto la TRH en el hipotálamo, como la TSH en la hipófisis

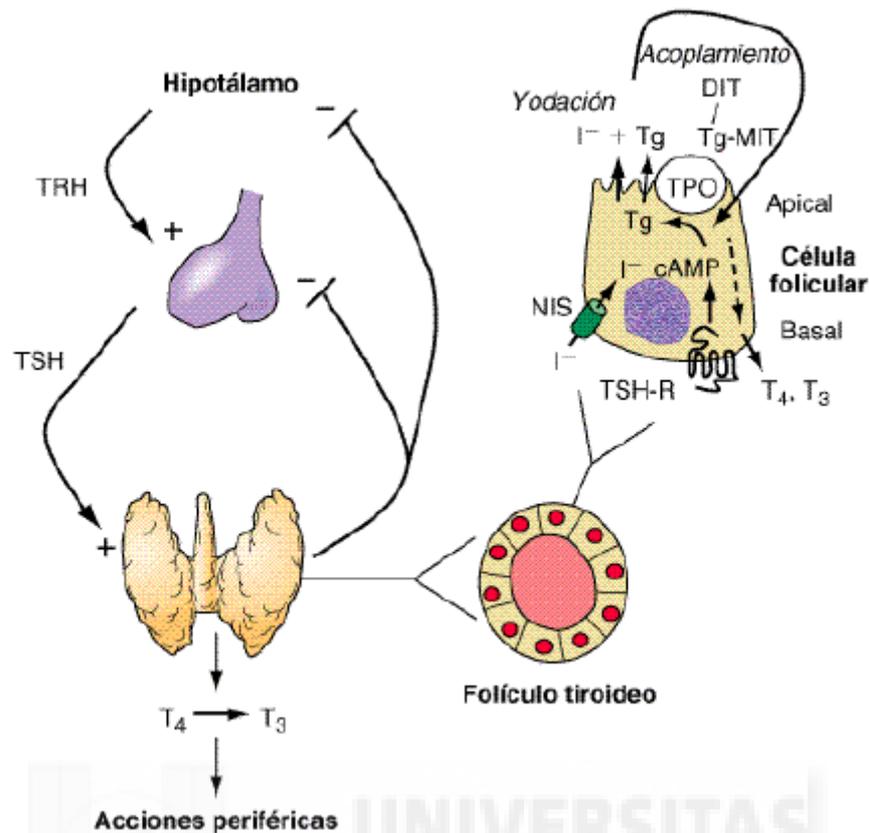


Figura 4. Regulación del eje hipotálamo-hipófisis tiroideas (Kasper D, 2006).

La TSH es el regulador más importante del eje tiroideo. Su concentración será un equilibrio entre las concentraciones de hormonas tiroideas, fundamentalmente T4, y TRH, siendo la concentración de hormonas tiroideas el regulador dominante de la producción de TSH.

De esta forma una disminución de la concentración de T4 aumenta la producción basal de TSH y potencia la estimulación de TSH mediada por TRH. Por el contrario, un aumento de la concentración de T4 suprime de forma rápida y directa la TSH e inhibe la estimulación de la TSH mediada por TRH (Longo DL, 2012).

Al igual que otras hormonas hipofisarias, la TSH se libera de forma pulsátil y presenta un ritmo diario alcanzando su concentración máxima por la noche. No obstante, estas elevaciones de la TSH son moderadas en comparación con las de otras hormonas hipofisarias, en parte debido a que la TSH tiene una vida media plasmática relativamente larga (50 min).

La dopamina, los glucocorticoides y la somatostatina suprimen la TSH, pero no tienen gran importancia desde el punto de vista fisiológico, excepto cuando estos agentes se administran en dosis farmacológicas.

1.1.6. Acción de las hormonas tiroideas

Las formas libres de las hormonas tiroideas, FT4 y FT3, atravesarán la membrana celular y se unirán a sus receptores específicos (TRs), existentes en la mayoría de células del organismo, dando lugar a una modificación de la transcripción y transducción de señales (Cheng SY, 2010).

Existen dos tipos de receptores, TR α y TR β , que pueden estar expresados como varias isoformas del receptor y que codifican para distintos genes. Aunque tanto FT3 como FT4 se puedan unir a ellos, FT3 tiene una afinidad diez veces mayor que FT4.

Esta unión desencadenará las múltiples acciones de las hormonas tiroideas en el organismo, pudiéndose dividir en dos grandes grupos: acciones sobre el metabolismo y acciones sobre el crecimiento y maduración (Figura 5).

Metabolismo	Proteínas	↑ Síntesis
	Carbohidratos	Efecto anti insulina ↑ Gliconeogénesis ↑ Hiperглиcemia ↑ Captura de glucosa ↑ Degradación de insulina Termogénesis
	Lípidos	↑ Movilización y degradación de lípidos ↓ Colesterol
Crecimiento y desarrollo	Catecolaminas	↑ Sensibilidad a las catecolaminas
	Hormona de crecimiento Calcitonina	Maduración del SNC Crecimiento y desarrollo
	Corazón	↑ Frecuencia cardíaca ↑ Contractilidad cardíaca

Figura 5. Acciones de las hormonas tiroideas en el organismo (Mendoza N, 2008)

1.2. Fisiología y función tiroidea fetal

1.2.1. Embriología de la glándula tiroides

El desarrollo de la glándula tiroidea se produce desde la 3ª semana de gestación, terminando hacia la 11ª semana de gestación.

Deriva embriológicamente de la capa germinal del endodermo originándose en el foramen caecum de la lengua. En la 3ª semana de gestación, se desarrolla el divertículo tiroideo en la línea media, entre el primer y segundo arco faríngeo (Sadler TW, 2006). Este divertículo se alarga caudalmente hacia la faringe, haciendo contacto con el hueso hioides que se está formando.

Al final de la cuarta semana de gestación, al llegar a su posición definitiva, a nivel del tercer al sexto anillo traqueal, el divertículo se bifurca y se forman dos lóbulos conectados entre sí por el istmo. La glándula tiroides permanece conectada al epitelio ventral de la faringe por el conducto tirogloso que desemboca en el foramen ciego, en la base de la lengua. Este conducto sufre apoptosis y degenera hacia la 7ª-8ª semana, cuando la glándula tiroides adquiere la localización final en el cuello y pierde la conexión con la faringe (Pederna E, 2006).

Desde la décima semana gestacional se pueden apreciar histológicamente los folículos tiroideos que contendrán los coloides hacia la duodécima semana. En esta semana el sistema tiroideo es bastante completo, incluyendo el hipotálamo, la hipófisis y la glándula del tiroides (Fisher D, 2008).

1.2.2. Función tiroidea fetal

La función de la glándula tiroidea no se detecta hasta la 4ª semana gestacional, con la síntesis de tiroglobulina en la semana 5ª (Rosen F, 1966), seguida de la captura

de yodo a la 12^a semana y la síntesis y secreción de las hormonas tiroideas hacia la 14^a semana (Larsen W, 2001).

A pesar de ello, durante el primer trimestre y gran parte del segundo, el feto es incapaz de producir concentraciones suficientes de hormonas tiroideas, debido a la todavía inmadurez de su función tiroidea. El aporte de las mismas será de origen casi exclusivamente materno, que vía transplacentaria dotará al feto de las concentraciones necesarias para su desarrollo, especialmente del sistema nervioso (Contempre B, 1993).

Será hasta el final del segundo trimestre, cuando aumente la concentración de T4 de origen fetal, fruto de un aumento de la TBG y a una mayor respuesta al estímulo del tiroides por la TSH.

De esta forma la concentración del suero fetal de T4 se elevan desde 2 µg/dl hacia la semana 12, hasta 10 µg/dl hacia el final del embarazo, al igual que la concentración de FT4 de 0,1 ng/dl hacia la semana 12, a 2,0 ng/dl al final del embarazo, siendo inferiores a las concentraciones de T4 maternas (Thorpe-Beeston JG, 1991).

La concentración en suero fetal de T3 se eleva de forma más discreta que la T4, desde 0,1 ng/dl hacia la semana 12, hasta 45 ng/dl al final del embarazo, siendo inferiores también a las concentraciones de T3 maternas (Thorpe-Beeston JG, 1991).

La enzima MDI-III presente en la placenta, útero y estructuras fetales, convierte a las formas activas T4 y T3 en las formas inactivas rT3 y T2 respectivamente, previniendo la concentración excesiva de hormonas tiroideas de origen materno en el feto (Burrow GN, 1994). De esta forma se irá regulando las concentraciones adecuadas según el desarrollo tisular y funcional tiroideo fetal, observándose una mayor concentración de rT3 en suero fetal que en suero materno (Wu SY, 1978).

La MDI-II, localizada en cerebro, pituitaria, placenta, músculo esquelético, corazón, tiroides y en el tejido adiposo, también contribuye a ello aunque en menor medida, aumentando su concentración y actividad después de la mitad de la gestación (Kester MHA, 2004).

Por el contrario la MDI-I, de localización principalmente hepática, renal y tiroidea, se encuentra a bajas concentraciones durante el periodo perinatal, aumentando sus concentraciones y ejerciendo su acción en el periodo adulto (Richard K, 1998).

La sulfatación es otra forma de inactivación de las hormonas tiroideas durante el periodo fetal. Las enzimas sulfotransferasas inactivan la T4 y la T3 sulfatando el grupo hidroxilo fenólico de su estructura, convirtiéndolas en sus formas sulfatadas T4S y T3S respectivamente, siendo los principales metabolitos de la hormona tiroidea que circulan en el feto (Koopdonk-Kool JM, 1996) (Figura 6).

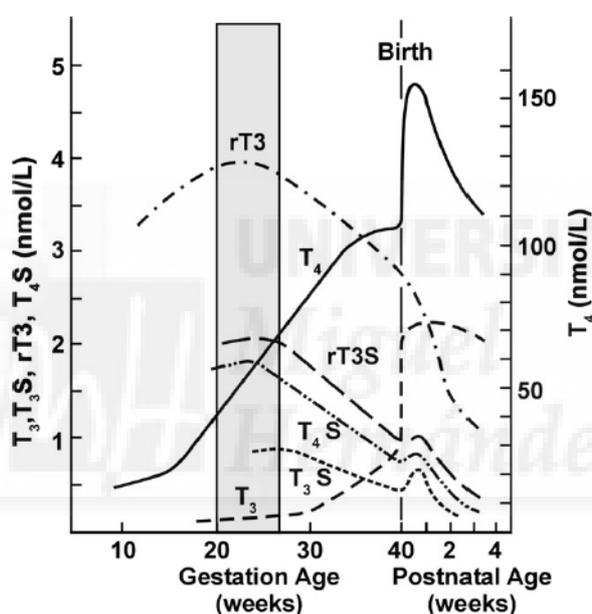


Figura 6. Maduración de las concentraciones en suero de las hormonas tiroideas y sus metabolitos en el feto y recién nacido (rT3S: forma sulfatada de triyodotironina reversa) (Delbert A, 2008).

La regulación hipotalámica-tiroidea se va desarrollando simultáneamente a la síntesis de hormonas tiroideas hasta el final de la gestación. Desde la semana 6^a a 8^a, las neuronas hipotalámicas contienen ya la TRH y el sistema vascular y la hipófisis portal también comienzan a desarrollarse.

Las isoformas TR α 1 y TR β 1 del receptor de hormonas tiroideas son detectadas en el cerebro fetal en la 8^a a 10^a semana, aumentando su concentración desde la 16^a

semana (Iskaros K, 2000). Los receptores localizados en el hígado, corazón y pulmón se pueden detectar desde la semana 13^a (Rajatapiti P, 2005).

La liberación de TSH se da desde la 12^a semana (Obregon MJ, 2007).

La placenta y el páncreas fetal producen TRH, que explican en gran parte las altas concentraciones de TSH presentes en suero fetal (Fisher D, 1994). Éstas se correlacionan mejor con las concentraciones de TRH hipotalámico y pituitario (Delbert A, 2008). No se conoce bien el papel de la TRH extrahipotalámica en la maduración tiroidea.

La TRH hipotalámica comienza a incrementarse en el segundo trimestre, al igual que la TRH pituitaria y la concentración de TSH en suero fetal, que va gradualmente ascendiendo desde la 12^a semana gestacional hasta el final de la gestación (Figura 7).

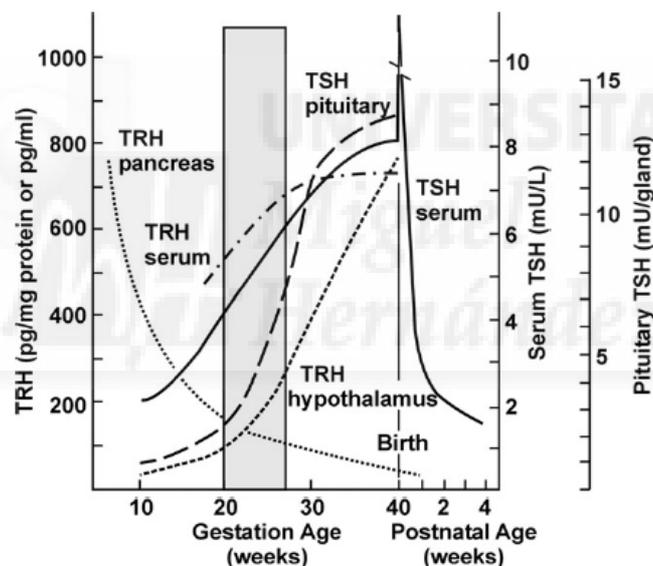


Figura 7. Concentraciones de TRH pancreática, pituitaria e hipotalámica y su relación con la concentración de TSH en suero en el feto y el recién nacido humano, en la maduración del sistema hipotálamo-tiroideo (Delbert A, 2008).

La glándula del tiroides acelera su crecimiento en el tercer trimestre, aumentando unas 8-10 veces de tamaño durante las semanas 30^a-42^a (Ares S, 1995), aumentando también su contenido en yodo, tiroglobulina y yodotironina (Van den Hove MF, 1999).

Las relaciones de retroalimentación por feedback negativas aparecen entre la semana 20ª y 24ª pero no serán completamente maduras hasta el primer o segundo mes de vida postnatal (Fisher DA, 2000).

1.2.3. Función tiroidea neonatal

La transición exitosa hacia la vida extrauterina requiere que el feto haya experimentado un proceso de maduración neuroendocrino para coordinar las acciones hormonales de la corteza suprarrenal, médula suprarrenal y tiroides, que le permita la transición a la respiración aérea, adaptación cardiovascular, termogénesis, homeostasis de la glucosa y maduración del intestino entre otras funciones (Gluckman PD, 1999).

En los 30 a 60 minutos posteriores al nacimiento, la concentración de TSH en suero de los recién nacidos a término (≥ 37 semanas), asciende repentinamente pudiendo llegar hasta 60-80 $\mu\text{U/ml}$. Se sugiere que puede ser debido al cambio de medio más frío y/o al corte del cordón umbilical (DeZegher F, 1994).

Posteriormente la concentración de TSH disminuye rápidamente, descendiendo a concentraciones inferiores de 10 $\mu\text{U/ml}$ en menos de una semana (figura 7).

Después de las primeras cuatro semanas, el intervalo de referencia de TSH es 0,5-6,0 $\mu\text{U/ml}$ superior a las concentraciones de los adultos, alcanzándose concentraciones similares a éstos a los dos años de edad.

El aumento en la primera hora de vida de la concentración de TSH, estimula la secreción tiroidea de T4, observándose un pico a las 24 a 36 horas de vida aproximadamente de 10-22 $\mu\text{g/dl}$. Las concentraciones de T3 también se elevan al mismo tiempo a un máximo de 250 ng/dl , fruto de la secreción tiroidea y conversión de T4 en T3 en los tejidos periféricos (Fisher DA, 2000).

Al igual que las concentraciones de TSH, las concentraciones de T3 y T4 irán descendiendo gradualmente estabilizándose en concentraciones ligeramente más altas

que las que se encuentran en los adultos, entre 7 a 16 $\mu\text{g/dl}$ las concentraciones de T4 en suero y entre 0,8 a 2,0 ng/dL las concentraciones de FT4 en suero.

1.3. Función tiroidea en prematuros

1.3.1. Prematuros, grupo poblacional.

Según la OMS la definición de recién nacido prematuro (RNP) es todo recién nacido vivo antes de las 37 semanas completas de gestación. A los nacidos a las 37 semanas completas de gestación o posteriores se les denominan recién nacidos a término (RNT).

Basadas en las semanas de gestación, la OMS (WHO, 2012) clasifica a los prematuros en las siguientes categorías:

- a) extremadamente prematuro (RNEP) a los < 28 semanas gestacionales
- b) muy prematuro (RNMP) a los nacidos entre 28 a < 32 semanas gestacionales
- c) prematuro moderado o tardío (RNTP) a los nacidos entre 32 a <37 semanas.

De los nacimientos prematuros aproximadamente el 84,3% ocurren en los prematuros RNTP, 10,4% en los RNMP y 5,2% en los RNEP (Figura 8), porcentajes que se mantienen estables en diferentes regiones geográficas (41 países) y diferentes periodos de tiempo (1990-2010), lo que sugiere una base biológica (Howson CP, 2012).

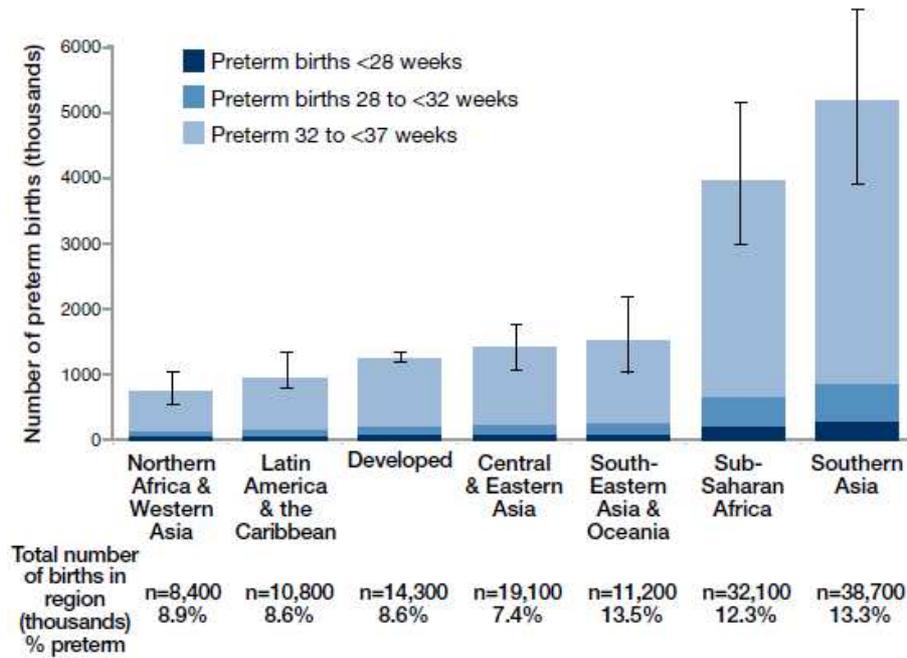


Figura 8. Nacimientos prematuros por edad gestacional y región en 2010.

El nacimiento prematuro es la causa principal de muerte de recién nacidos en las primeras cuatro semanas de vida y actualmente es la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años, después de la neumonía.

La prematuridad es un problema global (Figura 9), que afecta a todos los países, representando del 5-18% de los nacimientos en 184 países y cerca de 15 millones de nacimientos al año (Blencowe, 2012), yendo el problema en aumento porque las tasas de nacimientos prematuros están aumentando en casi todos los países con datos fiables.

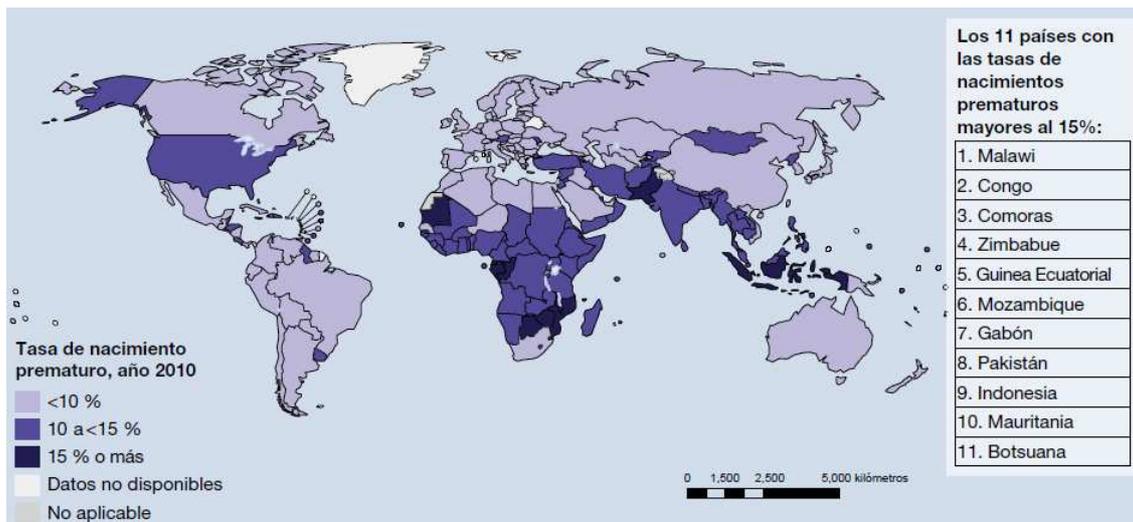


Figura 9. Tasa de nacimientos prematuros en el mundo en 2010 (Blencowe, 2012)

Las tasas de nacimientos prematuros en España en 2010 representan un 7,45%, es decir, un total de 498.300 RNP, de los que 400 de ellos fallecieron. Estos datos colocan a España en la posición nº 40 de países con menos partos prematuros, sin embargo esta tasa comparada con 1990 supone un aumento del 2,25%. En la provincia de Alicante, entre los años 2008-2011 la tasa de nacimientos prematuros se situó en el 6,75% con un 1,04% de RNEP y 5,72% de RNMP y RNTP (Cortés E, 2013)

La OMS ha propuesto diversas medidas de prevención y atención sanitaria para este grupo poblacional, con el objeto de reducir la prematuridad y dotar de una mejor asistencia a los recién nacidos prematuros. Especialmente importante es la atención a los RNEP, donde las diferencias de supervivencia son más diferentes entre países, siendo el número de muertes 9 veces mayor en los países del tercer mundo que en los países desarrollados.

1.3.2. Función tiroidea

1.3.2.1 Inmadurez del sistema

Las concentraciones de hormonas tiroideas de los RNP, especialmente las de los RNEP, difieren de las concentraciones de los RNT, debido a la inmadurez de su sistema tiroideo.

El grado de inmadurez varía con la edad gestacional y con el peso al nacer, siendo las formas más graves las que afectan a los RNEP y a los de peso < 1500 g al nacer (Van Wassenaer AG, 2002).

La inmadurez se manifiesta en: pérdida de T4 materna, respuesta termogénica menos eficiente, inmadurez del eje HHT, menor reserva tiroidea y metabolismo tiroideo fetal persistente (Delbert A, 2008).

I. Pérdida de T4 de origen materno

Al principio de la gestación, la transferencia placentaria es la única fuente de T4, siendo ésta esencial para el desarrollo neurológico normal del feto.

Entre las semanas 6^a a 11^a, antes del inicio de la función tiroidea fetal, ya es detectada la T4 de origen materno en el líquido celómico (Contempre B, 1993). La transferencia placentaria de T4 continua hasta el final del embarazo, en la que la T4 de origen materno en el feto representa aproximadamente un 30% (Vulsma T, 1989).

El aporte de T4 es especialmente importante en los RNEP, en las que la concentración de T4 de origen fetal es relativamente baja al nacer. En ellos, la pérdida de esta T4 materna con el parto es un factor importante que contribuye a la disminución de T4 en suero durante las primeras horas de vida postnatal.

II. Capacidad termogénica inmadura

La capacidad termogénica de los RNP es menor que la de los RNT, debido al retraso de la maduración de los mecanismos generadores de calor, especialmente los asociados al tejido adiposo marrón cuya estimulación requiere T3 y catecolaminas. Esta situación de inmadurez en la capacidad termogénica se ve reflejado en el metabolismo energético, especialmente en el metabolismo de la glucosa y el glucógeno.

La situación se ve agravada por una mayor pérdida de calor debido a factores asociados a la prematuridad: alta relación superficie/volumen, menor aislamiento cutáneo especialmente en los < 1500 g, control vasomotor inmaduro y postura corporal que le impide cambiar su posición en flexión de las cuatro extremidades.

La TRH está implicada en la regulación de la homeostasis de la temperatura al regular el sistema nervioso vegetativo y el eje tiroideo. La exposición al frío libera TRH del hipotálamo mediada por catecolaminas, que desencadena un aumento de la secreción de TSH hipotalámica y producción de hormonas tiroideas.

III. Inmadurez del sistema hipotálamo-hipofisario-tiroides

El estrés del parto estimula el aumento de las concentraciones de cortisol y de vasopresina (Lee MM, 1989). Los RNP al disponer de un sistema hipotalámico hipofisario todavía inmaduro no pueden dar una respuesta adecuada, predisponiéndose a hipotensión e hipoglucemia (Ng PC, 2004).

Una situación similar ocurre con la TSH debido a la inmadurez del sistema hipotalámico hipofisario. El cambio de medio más frío al nacer y el corte del cordón umbilical provocan un aumento de la concentración de TSH en los nacidos a término, que se da en menor medida en los RNP (Murphy N, 2004).

Esta respuesta limitada de TSH de los RNP, también se observa en la hipotiroxinemia (Fuse Y, 1990), situación en la que se observan descensos de las concentraciones de hormonas tiroideas. Un mecanismo de regulación efectivo y maduro

ante este estímulo, daría lugar a un aumento de la concentración de TSH, con la finalidad de estimular la síntesis de hormonas tiroideas por el tiroides.

La maduración completa de los mecanismos de feedback de la TSH del RNP no se dará hasta dos o tres meses de vida postnatal.

IV. Menor reserva tiroidea

El volumen de la glándula tiroidea de los RNP es menos que el de los RNT. El volumen es inferior a 0,2 ml en RNEP, pero irá aumentado hasta 1,5 a 2,0 ml en las primeras semanas de vida, al alcanzar lo que equivaldría a la 30 semana gestacional (Ares S, 1995).

El contenido de las reservas de yodo en prematuros de 24-32 semanas es menor, 35 µg/mg, comparado con nacidos a término de 8-41 semanas, 180 µg/mg. Al igual que la concentración de tiroglobulina (5,6 µg/mg en prematuros, 21,6 µg/mg en a término), T4 (1,2 mol/mol Tg en prematuros, 3,7 mol/mol Tg a término) y T3 (0,027 mol/mol Tg en prematuros y 0,091 mol/mol Tg en nacidos a término) (Van den Hove MF, 1999).

La ingesta de yodo limitada durante la 1ª a 2ª semana también contribuye a la menor reserva tiroidea (Ares S, 2005).

V. Metabolismo tiroideo fetal persistente.

El metabolismo tiroideo fetal está orientado a utilizar el aporte de hormonas tiroideas de origen materno y a metabolizar el exceso a metabolitos no activos mediante reacciones de desyodación y sulfatación.

En el nacimiento el aumento de la concentración de cortisol junto con el aumento de TSH y T4 aumentan la actividad de la MDI-I, reduciéndose la actividad de la desyodasa MDI-II y de las sulfotransferasas. Estos cambios en las actividades enzimáticas provocan un descenso de la concentración de la rT3 y de la T3S y un aumento de la concentración de T3.

En los nacidos antes de 30 semanas no se ha podido producir la maduración de los sistemas metabólicos implicados. Por ello nacen con una concentración de T3 menor y unas concentraciones mayores de rT3 y de T3S, que se mantiene varias semanas (Williams FL, 2004).

1.3.2.2 Concentraciones de hormonas tiroideas y TSH en prematuros

Los cambios que sufren las concentraciones de TSH, T4 y T3 son similares a los RNT pero con concentraciones cuantitativamente menores según su grado de prematuridad.

Una hora después de nacer, tienen menores incrementos en los valores de TSH y concentraciones de T4 libre que los nacidos a término. La mediana de concentraciones de TSH en suero en los RNEP es de 8 mU/l, en los RNMP de 20 mU/l y en los RNTP 23 mU/l. Mientras que las de FT4 son 1,5 ng /dl en RNEP, 2,1 ng/dl en RNMP, y 2,3 ng/dl en RNTP (Murphy N, 2004).

En la primera semana de vida la concentración de FT4 en suero oscila entre 0,5 y 3,3 ng/dl en los RNEP y entre 1,3 a 4,7 ng/dl en los RNMP (Adams LM, 1995).

Al igual que en los RNT, la concentración sérica de T4 desciende en la primera semana de vida, siendo el descenso mayor dependiendo del grado de prematuridad, ya que el aclaramiento de T4 es más rápida en los RNEP (Williams FL, 2004). En caso de déficit de yodo este descenso es más acusado en todos los RNP (Ares S, 1997).

Después de varias semanas, las concentraciones de T4 y de T3 se elevan gradualmente asemejándose a las concentraciones de los RNT (Carrascosa A, 2008).

1.3.2.3 Otras situaciones que afectan a la función tiroidea de prematuros

1. Predisposición al síndrome de enfermedad no tiroidea.

Los RNP son un grupo poblacional muy susceptible de enfermar, especialmente los RNEP, seguidos en riesgo por los RNMP y los RTP.

Muchas de estas morbilidades, especialmente las de mayor gravedad, están asociadas a lo que se conoce como “síndrome de enfermedad no tiroidea” o “síndrome del eutiroides enfermo” (SEE).

Este síndrome hace referencia a una alteración de las concentraciones de T3, T4 y/o de TSH en un paciente eutiroides, secundarias a una patología ajena al tiroides (infección, insuficiencia cardíaca, insuficiencia hepática, etc). Una vez recuperado de la enfermedad extratiroides las concentraciones de T3, T4 y de TSH vuelven a la normalidad (Marks SD, 2009).

El SEE se caracteriza por una concentración en suero baja de T3 y de FT3, alta, baja o normal de T4, normal o elevada FT4 y baja de TSH (DeGroot LJ, 2006).

La bajada en la concentración de T3 se debe a la inhibición de la MDI-I por las citoquinas, reduciéndose así la producción de T3 y T4 de origen no tiroideo. La concentración de rT3 aumenta, ya que la MDI-I también está implicada en la reacción enzimática de su degradación.

La paradoja del aumento o normalidad de FT4 en algunos enfermos, se debe a una disminución de la TBG, proteína encargada del transporte de la tiroxina. Al disminuir la TBG, se queda más tiroxina en forma libre.

Las citoquinas también suprimen la liberación hipofisaria de TSH, disminuyendo así la concentración de ésta y pudiendo desencadenar una disminución también de T4 si la supresión se mantiene.

Los fármacos administrados para tratar otras enfermedades, también pueden modificar las concentraciones de TSH. En prematuros enfermos tratados con glucocorticoides (Arai H, 2009) o la dopamina (Carrascosa A, 2008), se observó una disminución de la secreción de TSH.

II. Hipotiroxinemia transitoria del prematuro

Se define la hipotiroxinemia transitoria del prematuro (THOP) como una concentración de hormonas tiroideas bajas, con concentraciones normales de TSH, sobre todo en los extremadamente prematuros (Fisher DA, 2007).

Debido a la inmadurez del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, las bajas concentraciones de T4 que se dan en el prematuro, no son capaces de estimular el aumento de TSH (Hunter MK, 1998).

Esta situación es transitoria y se revierte varias semanas después de nacer, al madurar el eje, alcanzándose concentraciones de T4 y TSH similares a las de los nacidos a término.

III. Hipertirotropinemia transitoria

Hay algunas situaciones que propician la aparición de una hipertirotropinemia transitoria en el prematuro.

La más común es la recuperación de la THOP, que se considera como una respuesta normal a la hipotiroxinemia fisiológica inicial. Cuando madura el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, en respuesta a la baja concentración de T4 se produce en algunos prematuros una elevación transitoria de TSH en suero, generalmente de 6 a 15 mU/L, antes de que lleguen a un nuevo equilibrio (Mitchell ML, 1994).

Aunque su práctica médica está en desuso en recién nacidos, otro mecanismo responsable de hipertirotropinemia transitoria es la exposición al yodo tópica, utilizado durante la colocación de catéteres intravenosos centrales y procedimientos quirúrgicos menores (Aitken J, 2013).

En los recién nacidos, especialmente los prematuros al tener la piel fina, el yodo tópico se puede absorber, provocando el efecto de Wolff Chaikoff, es decir, una

inhibición de manera transitoria de la organificación del yoduro tiroideo en la síntesis de hormonas tiroideas (Wolff J, 1947).

En los individuos adultos con tiroides normal, la glándula tiroidea escapa de este efecto inhibitor y readopta la organificación del yodo. Sin embargo, en los prematuros el escape de este efecto puede durar semanas, con el consiguiente desarrollo de hipotiroidismo durante una fase muy importante de desarrollo del sistema nervioso central (Aliefendioğlu D, 2006).

1.4. Cribado del Hipotiroidismo congénito.

1.4.1. Hipotiroidismo congénito

Se define al hipotiroidismo congénito (HC) como la deficiencia de hormonas tiroideas presente al nacer (Abduljabbar MA, 2012), debido a:

- una producción deficiente, ya sea a nivel hipotálamo-hipofisario (hipotiroidismo central), o a nivel tiroideo (hipotiroidismo primario)
- o bien por resistencia a su acción en los tejidos diana, o alteración de su transporte (hipotiroidismo periférico).

La etiología es diversa. Alrededor del 90% de los casos de hipotiroidismos son permanentes, y el resto, un 10% hipotiroidismos transitorios (Mayayo, 2008) (Figura 10).

La causa más frecuente de HC permanente corresponde a las disgenesias tiroideas (ectopia, agenesia hipoplasia) que representan el 80-90% de los casos (Mayayo E, 2000). Dichas disgenesias son habitualmente esporádicas, pero se está descubriendo que algunos casos tienen una causa genética, por mutaciones de genes que codifican factores de transcripción tiroideos (Grüters A, 2003; Trueba SS, 2005).

H.C. HIPOTÁLAMO-HIPOFISARIO (CENTRAL)

Permanente	Déficit de TRH: esporádico	
	Deficiencia aislada de TSH	Esporádica
		Genética: TRH-R, subunidad β TSH
	Panhipopiturismo	Esporádica
Genético: genes		POUF1 (déficit TSH, GH, PRL) PROP1 (déficit TSH, GH, PRL, LH, FSH) LHX3 (déficit de: TSH, GH, PRL, LH, FSH) LHX4 (déficit de: TSH, GH, PRL, LH, FSH, ACTH)
Transitorio	Recién nacido premature	
	Recién nacido hijo de madre hipertiroidea con E. Graves	

H.C. PRIMARIO (TIROIDEO)

Permanente	Disgenesias tiroideas: agenesia, hipoplasia, ectopia	Esporádica	
		Genéticas: TSH-R, Pax8; TTF2; NKX2.1	
	Dishormonogénesis: Hereditarias (AR)	Defectos captación-transporte de yodo: gen NIS	
		Defectos organificación del yodo	Defectos tiroperoxidasa: gen TPO
			Defectos sistema generador H ₂ O ₂ : gen THOX2
Defectos síntesis de tiroglobulina (Tg): gen Tg. Expresión reducida TTF1			

		Síndrome de Pendred: gen PDS
		Defectos de desyodación: gen DEHAL 1
Transitorio	Iatrógeno	Exceso de yodo
		Drogas antitiroideas
	Déficit de yodo	
	Inmunológico	Anticuerpos antitiroideos
		Ac. TBII
Genético: gen THOX2		
H.C. PERIFERICO		
S. resistencia generalizada a las hormonas tiroideas: gen TR β		
Alteración del transporte celular de hormonas tiroideas: gen MCT8		

Figura 10. Etiología del hipotiroidismo congénito (Mayayo E, 2008)

Los factores de transcripción (FT) mejor conocidos involucrados en el HC son FOXE 1 (TITF-2), NKX2.1 (TITF-1) y PAX 8 (Vicens-Calvet E, 2005) (Figura 11).

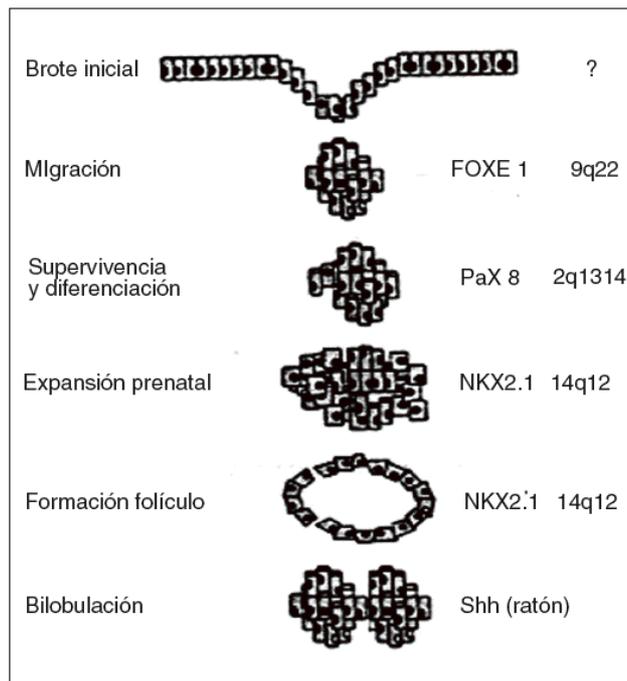


Figura 11. Factores de transcripción mejor conocidos involucrados en el HC (Vicens-Calvet E, 2005)

El 10-20% restante de los HC primarios permanentes corresponden a dishormonogénesis, que es un grupo heterogéneo de errores congénitos que resultan del bloqueo total o parcial de cualquiera de los procesos bioquímicos implicados en la síntesis y secreción de hormonas tiroideas, y que siempre tienen una causa genética (Moreno JC, 2005).

Las manifestaciones clínicas son a menudo sutiles o no están presentes en el nacimiento (Alm J, 1984). Esto es debido a que durante la gestación gran parte de las hormonas tiroideas utilizadas por el metabolismo tiroideo fetal son de origen materno.

En la primera mitad de la gestación son de procedencia exclusivamente materna a través de su transferencia placentaria, mientras que en la segunda mitad, su procedencia es mixta, materna y fetal (Shields BM, 2011). Si el feto padece hipotiroidismo las hormonas tiroideas maternas siguen protegiendo el desarrollo cerebral de la mayoría de los fetos hasta el nacimiento, momento este, en que desaparece la protección materna.

A pesar de ello en los primeros meses de vida la ausencia de sintomatología clínica en la mayoría de los niños hipotiroideos impide su sospecha (Rastogi MV, 2010).

Los signos más comunes del HC son: facies mixedematosa, fontanelas grandes, piel fría, macroglosia, abdomen distendido con hernia umbilical, e hipotonía. Mientras que los síntomas más comunes incluyen: disminución de la actividad y aumento del sueño, dificultad para alimentarse, dificultad para respirar, estreñimiento, ictericia prolongada y retraso mental (LaFranchi SH, 1979).

El Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana define como positivo el cribado de HC cuando:

a) La TSH en sangre desecada en papel es $> 10 \mu\text{U/ml}$, la TSH en suero $> 10 \mu\text{U/ml}$ y la T4 libre $< 0,8 \text{ ng/dl}$

b) En los casos dudosos en los que la TSH esté entre $7,5-10 \mu\text{U/ml}$ se solicita una nueva muestra de sangre desecada en papel para repetir la determinación de TSH. Si es $\geq 7,5 \mu\text{U/ml}$ y se confirma que la TSH en suero $> 10 \mu\text{U/ml}$ y la T4 libre $< 0,8 \text{ ng/dl}$, el resultado se considera positivo.

1.4.2. Incidencia

El HC es la endocrinopatía más frecuente en la infancia. Su incidencia mundial es de entre 1:3000-1:4000 recién nacidos vivos (IAEA, 2005). Sin embargo los datos son muy diferentes en los diferentes países: 1:5495 en Austria, 1:4289 en Francia (ESPE, 1990), 1:3047 en Italia (Sorcini m, 1993), 1:3044 en Estados Unidos (Therrell, B.L, 2001), 1:1000 Pakistan, 1:2000 Bangladesh (IAEA 2002), 1:2334 en España (AECNE, 2012), etc.

Las diferencias entre países se deben a los diferentes factores de riesgos existentes.

Uno de los más importantes es la yodoinsuficiencia, definida por la WHO como el consumo insuficiente de yodo en la alimentación y reflejado en una concentración de yodo en orina $<100 \mu\text{g}/\text{m}$ (WHO, 2007). La yodoinsuficiencia es un problema mundial, dos tercios de la población mundial vive en áreas de yodoinsuficiencia (Figura 12) (Andersson M, 2007). La WHO ha tratado de reducir el problema implementando medidas de salud pública en los diferentes países mediante el consumo de alimentos yodados (WHO, 1992).

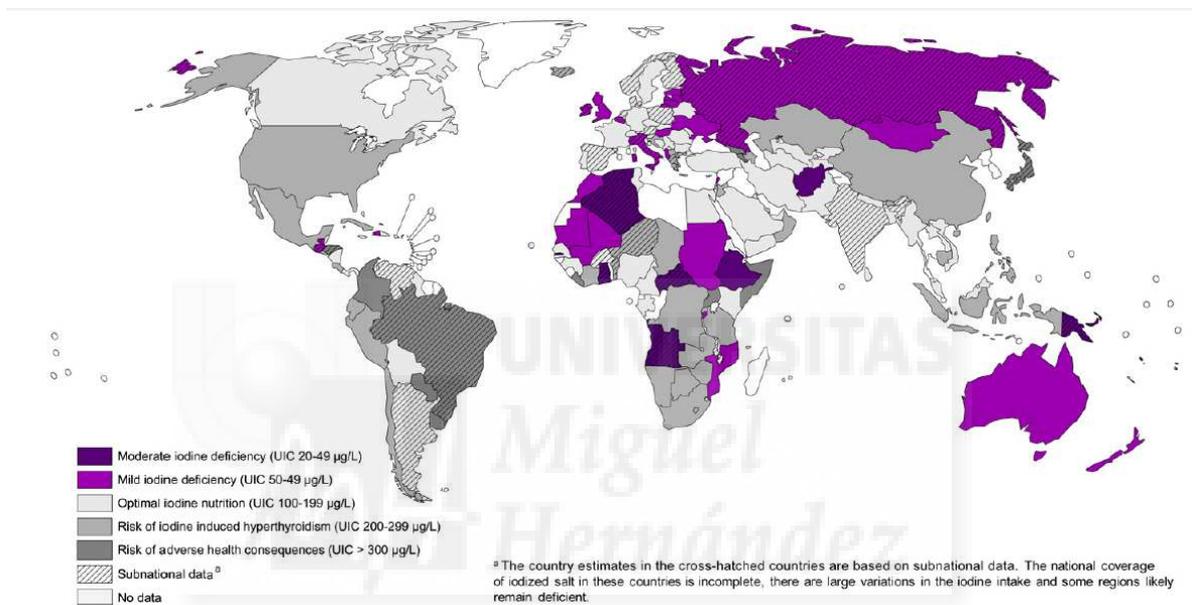


Figura 12. Estado mundial del consumo de yodo (Andersson M, 2007)

El aporte de yodo es especialmente importante en los recién nacidos, especialmente en los RNP (Mark V, 2011), ya que la yodoinsuficiencia está correlacionada con numerosos patologías tiroideas y también con una mayor prevalencia de HC (IAEA, 2005).

Otros factores de riesgos descritos son: prematuridad del recién nacido (Rastogi MV, 2010), raza (Olney RS, 2010), sexo femenino (Eugène D, 2005), parto gemelar o múltiple (Harris KB, 2007), edad de la madre >39 años (Harris KB, 2007), factores genéticos (Moreno JC, 2005).

1.4.3. Programas de cribado neonatal

El cribado neonatal de enfermedades es un programa de salud pública destinado a la identificación presintomática de determinados estados genéticos o metabólicos que dan lugar a la aparición de una enfermedad, mediante el uso de pruebas que puedan ser aplicadas a toda la población de recién nacidos.

El HC reúne todas las características clásicas para incluirse en los programas de cribado neonatal, propuestas por el Committee for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SIEM) (Simopoulos AP, 2009):

- a) La enfermedad cursa con morbilidad mental o física severa y/o mortalidad si no se diagnostica en el periodo neonatal (el HC cursa con retraso mental si no se trata)
- b) La búsqueda clínica mediante un simple examen físico no es efectiva y no identifica la enfermedad en este periodo. En los primeros meses de vida la ausencia de sintomatología clínica del HC en la mayoría de los niños hipotiroideos impide su sospecha (Rastogi MV, 2010).
- c) Existe un tratamiento efectivo disponible: tiroxina (Abduljabbar MA, 2012).
- d) El tratamiento precoz mejora significativamente el pronóstico (Stanescu DE, 2010)
- e) La enfermedad tiene una incidencia relativamente elevada: > 1 por 10.000-15.000 recién nacidos. El HC tiene una incidencia mundial de 1:3000-1:4000 recién nacidos vivos (IAEA, 2005).
- f) Existe un test analítico de cribado, rápido, sencillo, fiable y de bajo coste: la determinación de TSH (Cassio A, 2013)

1.4.4. Controversias del cribado de prematuros

Numerosos son los factores que dificultan la interpretación del cribado neonatal de HC en RNP: concentraciones más bajas de T4 y de TSH debidas a la inmadurez del prematuro, la maduración progresiva y modificación de las concentraciones de T4 y TSH con el paso de las semanas de vida, la mayor incidencia de hipotiroidismo congénito, la frecuencia elevada de formas transitorias de hipotiroidismo e hipertirotropinemia, la mayor incidencia de enfermedad no tiroidea y el aumento de número de nacimientos prematuros.

Además, algunos RNP con HC son más propensos a tener una evolución atípica que caracterizándose por un aumento retardado en los valores de TSH, creando la posibilidad de un resultado falso negativo (Woo HC, 2011).

Si se toma como referencia el mismo límite de TSH para RNT que para RNP, el número de resultados anormales es desproporcionadamente alto (Kaye CI, 2006).

Por ello la mayoría de los programas de cribado neonatal recomiendan realizar un doble cribado, repitiendo la misma determinación de TSH: una a los dos días de nacer y otra cuando alcance la madurez de su sistema HHT (lo que equivaldría a la 37 semana gestacional) (Bijarnia S, 2011).



2. Justificación del estudio



2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

2.1. Función tiroidea diferente en RNP respecto a RNT

Debido a la inmadurez de su sistema los RNP poseen una función tiroidea diferente a la de los RNT. Esto hace que las concentraciones de hormonas tiroideas y de TSH sean diferentes entre estos dos grupos poblacionales, teniendo los RNP una concentración de TSH menor que la de los RNT.

La inmadurez del RNP, causa de esta diferencia de concentración, se manifiesta en una pérdida de T4 materna, una respuesta termogénica menos eficiente, la inmadurez del eje HHT, una menor reserva tiroidea y un metabolismo tiroideo fetal persistente (Delbert A, 2008).

En el RNP se dan además una serie de situaciones como la predisposición al SEE, la THOP o la hipertirotropinemia transitoria que dificultan la interpretación de las pruebas de valoración de la función tiroidea.

Además los RNP poseen una mayor incidencia de HC que los RNT (Rastogi MV, 2010; Vigone MC, 2014).

Todas estas situaciones, unidas a que el número de nacimientos prematuros está aumentando en todos los países (Howson CP, 2012), hacen que se deba tener especial atención en el cribado de HC de este grupo poblacional.

2.2. Necesidad de intervalos de referencia de TSH específicos para RNP

Por las razones anteriormente comentadas en el anterior punto, si se toma como referencia el mismo límite de decisión de TSH para RNT que para RNP, el número de

resultados falsos negativos en RNP es desproporcionadamente alto (Kaye CI, 2006), pudiéndose dejar de diagnosticar RNP con HC al escapar del cribado.

Por ello la mayoría de los programas de cribado neonatal recomiendan realizar un doble cribado, repitiendo la misma determinación de TSH en los RNP transcurridas unas semanas (Mandel, 2000; Larson, 2003; Gruñeiro-Papendieck, 2005; Woo HC, 2011; Korzeniewski SJ, 2013) y tomando como límites de decisión los mismos que en los RNT.

La estrategia actual tomada por el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana es la de repetir el cribado en los RNP.

Algunos autores van más allá defendiendo la estrategia de adecuar los límites de decisión en RNP (Korada M, 2008), denotando la necesidad de establecer intervalos de referencia para los RNP de forma general (Cummings JJ, 2012) o para los subgrupos de RNP según grado de prematuridad y según las variables influyentes en la prueba de cribado de forma más específica (Lott JA, 2004).

Los intervalos de referencia de un parámetro bioquímico son los valores comprendidos entre el percentil 2,5 y 97,5 de una distribución de una población con unas condiciones definidas en el estudio, normalmente sana. Tienen una finalidad comparativa, con el objeto de poder interpretar mejor los valores de los nuevos individuos a los que se realice la prueba, pudiéndose emplear con fines diagnósticos, tras una validación, si no existen diferencias significativas entre la población de referencia y la población atendida y si se siguen los mismos métodos de determinación del parámetro bioquímico (CLSI, 2008).

La realización de estos intervalos de referencia específicos para RNP permitiría conocer mejor la función tiroidea de los RNP, adecuar unos límites de decisión específicos para este grupo poblacional y una mejor interpretación de la prueba de cribado de HC en RNP.

No existen publicados intervalos de referencia de TSH neonatal para RNP que se puedan emplear para extrapolar a la población general de RNP ya que los publicados

están realizados con una muestra muy pequeña (Adams LM, 1995; Clarck SJ, 2001; Zhu L, 2013).

2.3. Necesidad de intervalos de referencia de TSH específicos para cada laboratorio.

La International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) y la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) recomiendan realizar los intervalos de referencia propios de cada laboratorio para los parámetros bioquímicos empleados (Aytekin M, 2008; Baloch, 2013).

Esto es debido a dos motivos:

a) Para realizarse con una muestra de la población sobre la que se harán uso. Esto es debido a que la variabilidad entre poblaciones (etnia, consumo de yodo, incidencia) puede originar distintas concentraciones de un parámetro bioquímico. En nuestro caso, ya hemos comentado como la TSH de diferentes poblaciones difiere por numerosos factores: incidencia de HC, consumo de yodo, frío, etc.

b) Para realizarse con los mismos métodos de medida de laboratorio que se emplearán en la práctica clínica, ya que en la TSH (al igual que en casi todos los parámetros bioquímicos) existen diferencias según el método de medida empleado.



3. Objetivos





3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

Describir el Intervalo de referencia de TSH de los prematuros cribados de 2008-2012

3.2. Objetivos secundarios

- Determinar la prevalencia de hipotiroidismo congénito en RNP y en RNT, según el criterio de positividad de HC del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana

- Determinar si existen diferencias significativas en las concentraciones de TSH entre los RNP y RNT

- Describir las posibles variaciones en las concentraciones de TSH entre los RNP y RNT según los días de vida en la extracción

- Evaluar si el grado de prematuridad, el peso al nacer, los días de vida en la extracción, el sexo del nacido, parto gemelar, edad de la madre y el mes del año (meses fríos) al extraer la muestra son factores que influyen en el valor de TSH en niños prematuros.

- Analizar intrasujeto si existen diferencias significativas entre los valores de TSH en el RNP conforme va creciendo y cambiando de grupo poblacional según grado de prematuridad corregida.





4. Métodos



4. MÉTODOS

4.1. Población

4.1.1 Tipo de estudio

El presente trabajo es un estudio transversal realizado con las muestras de sangre desecada sobre papel obtenida para el cribado neonatal de HC del programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana, de todos los recién nacidos de la provincia de Alicante que cumplieron con los criterios de inclusión/exclusión, en un periodo completo de cinco años desde el 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012.

El programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana (<http://publicaciones.san.gva.es/publicaciones/documentos/V.4285-2011.pdf>) es un programa de Salud Pública que ofrece el diagnóstico de una serie de enfermedades, entre las que se incluyen el HC, a todos los recién nacidos de la Comunidad Valenciana cuyos padres o tutores legales así lo deseen, con objeto de iniciar el tratamiento precozmente en los diagnosticados, para mejorar su pronóstico y calidad de vida.

El estudio realizado es puramente observacional, sin intervención de ningún tipo, ni en las actuaciones sanitarias, ni en la recogida de datos, de los ya establecidos por el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana. Los datos de los participantes del estudio se obtuvieron de las fichas del mencionado programa de cribado, de forma totalmente anónima.

De los niños que cumplieron los criterios de inclusión, se han recogido de forma automática del programa informático del cribado neonatal de la Comunidad Valenciana “MetaB”, los siguientes datos: edad gestacional (semanas y días), fecha de toma de la muestra y fecha de nacimiento.

Para su análisis se ha dividido a la población en dos grupos, atendiendo a su edad gestacional, estableciéndose como grupo de referencia los recién nacidos pretérmino (RNP) y como grupo control los recién nacidos a término (RNT).

Para un análisis más detallado de los RNP, se recogen de forma manual a través de las fichas individuales del programa de cribado neonatal, los siguientes datos: sexo (hombre o mujer), peso al nacimiento (gramos), ser gemelo (sí o no) y edad de la madre (años cumplidos).

Se calcula la variable días de vida en la extracción (días) restando a la fecha de toma de la muestra la fecha de nacimiento.

4.1.2 Criterios de inclusión y de exclusión

- Criterios de inclusión:

Todos los recién nacidos durante el periodo de tiempo del 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012 que cumplan con los siguientes criterios:

- Nacido en la provincia de Alicante
- Firma de los padres o tutores legales del Consentimiento Informado para la realización del cribado neonatal de enfermedades metabólicas
- Muestra acorde con los criterios de calidad preanalítica definidos (Espada, 2001, Mei, 2001): muestra extraída por profesionales sanitarios con lanceta estéril de menos de 2,4 mm, sin emplear derivados yodados en la desinfección de la piel, llenando por completo todos los círculos impresos de la tarjeta de papel de filtro, dejadas secar a temperatura ambiente (15-22°C) y enviadas al laboratorio evitando mezcla entre especímenes.

- Criterios de exclusión:

Se han excluido a los recién nacidos durante el periodo de tiempo del 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012 que cumplan con los siguientes criterios:

- Edad gestacional no cumplimentada en la hoja de recogida de datos del programa de cribado de metabopatías de la Generalitat Valenciana.
- Muestra insuficiente o en discordancia con los criterios de calidad preanalítica definidos (Espada, 2001).
- Niños con cribado positivo para Hipotiroidismo Congénito.

4.1.3 Definición de subgrupos

-Grado de prematuridad:

Se clasificó a los RNP según el grado de prematuridad definido por la OMS (WHO, 2012) en las siguientes categorías:

- a) extremadamente prematuro (RNEP) a los < 28 semanas gestacionales
- b) muy prematuro (RNMP) a los nacidos entre 28 a < 32 semanas gestacionales
- c) prematuro moderado o tardío (RNPT) a los nacidos entre 32 a <37 semanas.

-Grado de bajo peso al nacer:

Se clasificó a los RNP según la clasificación de bajo peso al nacer definida por la OMS (WHO, 2004) en las siguientes categorías:

- a) Normal a los ≥ 2500 g
- b) Bajo peso al nacer a los de peso entre 1500 y 2499 g, incluidos dichos límites
- c) Muy bajo peso al nacer a los de peso entre 1000 y 1499 g, incluidos dichos límites
- d) Extremadamente bajo peso al nacer a los < 1000 g

-Bajo peso al nacer relacionado con la inmadurez del sistema hipotálamo-hipofisario tiroideo:

El peso al nacer se categorizó también de esta forma, debido a que algunos autores defienden que el peso al nacer está relacionado con la inmadurez de la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides (Mercado M, 1984; Chung HR, 2009; Bijarnia S, 2011) y con una mayor incidencia de hipotiroidismo congénito (Dalili S, 2012).

Esta clasificación, que difiere a la de la OMS, categoriza el peso al nacer en:

- a) No inmaduros a los de peso al nacer ≥ 1500 g
- b) Inmaduros a los de peso al nacer < 1500 g

-Mes de nacimiento frío:

La exposición al frío, especialmente en los RNP que se caracterizan por tener una capacidad termogénica inmadura, hace que se libere TRH del hipotálamo mediada por catecolaminas, que desencadena un aumento de la secreción de TSH hipotalámica.

Además en algunas poblaciones se han descrito mayor número de casos de hipotiroidismo congénito en los meses de frío (Virtanen M, 1989; Gu YH, 2007; Hashemipour M, 2007).

Alicante posee un clima mediterráneo árido, caracterizado por unas temperaturas cálidas prácticamente durante todo el año.

Para caracterizar esta variable correctamente se recogieron las temperaturas dadas por la Agencia Estatal de Meteorología del Gobierno de España (AEMET) correspondientes a cada mes de cada año estudiado

2008	T	2009	T	2010	T	2011	T	2012	T
	(°C)								
enero	11,5	enero	11,2	enero	12,5	enero	10,9	enero	11,6
febrero	12,3	febrero	11,1	febrero	11,9	febrero	11,8	febrero	8,9
marzo	14,8	marzo	13,1	marzo	12,8	marzo	13,4	marzo	12,9
abril	16,6	abril	15,2	abril	15,8	abril	17,4	abril	16,1
mayo	18,6	mayo	19,7	mayo	18,8	mayo	20,1	mayo	20,3
junio	22,4	junio	24,3	junio	22,8	junio	23,0	junio	25,0
julio	25,7	julio	26,6	julio	26,9	julio	26,1	julio	26,2
agosto	26,5	agosto	26,0	agosto	27,2	agosto	26,9	agosto	27,7
septiembre	23,7	septiembre	22,3	septiembre	24,0	septiembre	24,5	septiembre	23,6
octubre	19,3	octubre	19,9	octubre	18,9	octubre	20,5	octubre	19,8
noviembre	12,6	noviembre	17,2	noviembre	14,3	noviembre	16,1	noviembre	15,2
diciembre	10,7	diciembre	13,7	diciembre	10,3	diciembre	14,9	diciembre	12,5

Figura 13. Temperaturas medias en grados centígrados (°C) de Alicante según la

AEMET

De esta forma, tomando la fecha de recogida de la muestra se categorizó esta variable en:

- a) Mes frío a los < 14 °C de temperatura media
- b) Mes sin frío a los ≥ 14 °C de temperatura media

-Días de vida categorizado

De acorde a las recomendaciones del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana, se categoriza esta variable en:

- a) Temprana, si los días de vida al recoger la muestra son < 2 días
- b) Adecuada, si los días de vida al recoger la muestra están comprendidos entre 2 y 7 días, ambos límites incluidos
- c) Tarde, si los días de vida al recoger la muestra > 7 días

4.1.4 Tamaño muestral

Se recogieron los datos de todos los individuos que cumplieron los criterios de inclusión.

Teniendo en cuenta que la tasa de participación del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana es superior al 99,9% (AECNE, 2012) y que se vuelve a recoger una nueva muestra cuando ésta no cumple los criterios de calidad preanalíticos definidos, los resultados de este estudio reproducen fielmente los datos de esta población de Alicante durante este periodo.

Se recogieron en total los datos de 89.573 recién nacidos, de los que 79.019 fueron RNT (88,22%) y 6.526 RNP (7,29%). Fueron excluidos 4.028 (4,50%) por no presentar la edad gestacional en la hoja de recogida de datos. Es de suponer que la mayoría de ellos fueran RNT, puesto que en los RNP la atención sanitaria es más exhaustiva y hay mayor atención al rellenar los datos.

Fueron excluidos también 45 enfermos de hipotiroidismo congénito.

Resultando al final una n de 6.520 RNP y una n de 78.980 de RNT, el grupo control.

Con este tamaño de muestra se tiene suficiente potencia estadística para hallar las diferencias de TSH entre RNP y RNT esperadas de 0,10 μ U/ml, las diferencias significativas esperadas en el análisis del resto de las variables consideradas como $p < 0,01$ y para el cálculo de los intervalos de referencia de TSH de los RNP.

Para el cálculo de los intervalos de referencia (IR), la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recomiendan una n superior a 120 (International Organization for Standardization, 2007; CLSI, 2008), aunque en el establecimiento de IR de subgrupos se permite una n inferior a 120 si se realiza con el método robusto de Horn y Pesce (Horn P, 1998).

4.2. Método del estudio

4.2.1 Información y Consentimiento Informado

Desde el último trimestre del embarazo, a todas las madres que desearon que se les realizara el cribado de HC a sus hijos, se les da la información del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana. Dicha información proporcionada directamente por los profesionales sanitarios incluye: razones del cribado (objetivo, beneficios y riesgos), información sobre el HC, procedimiento de la prueba, comunicación de resultados, razones para realizar pruebas de confirmación diagnóstica, tratamiento y seguimiento de enfermos y cómo obtener más información.

Posteriormente se solicita la autorización del Consentimiento Informado mediante firma de la madre, padre o tutor del recién nacido.

4.2.2 Extracción de muestras y recogida de datos demográficos

Se realiza la toma de una muestra de sangre desecada sobre papel de filtro Whatman 903, obtenida mediante punción del talón.

La extracción se realiza en los servicios de maternidad antes del alta o en su centro de Atención Primaria en los días siguientes al alta. Se recibe una única muestra por recién nacido para la detección del hipotiroidismo congénito, excepto en el caso de algunos RNP en los que se recibieron más de una muestra para confirmar la inexistencia de HC.

Previamente a la extracción se desinfecta el talón sin utilizar antisépticos iodados, ya que pueden alterar el resultado de las pruebas dando falsos positivos y además inducir hipotiroidismo (L'Allemand D, 1987; Gordon CM, 1995; Markou K, 2001). En su lugar, se emplea isopropanol y se deja evaporar para la extracción de la muestra. La evaporación es importante ya que se pueden dar falsos negativos en el cribado por dilución de la muestra.

La técnica de extracción consiste en una punción del talón en las zonas seguras que quedan limitadas por dos líneas definidas por la técnica de Blumenfeld (Blumenfeld, 1979): una que va desde el punto medio del talón al cuarto dedo y la otra que va desde el punto medio del talón hasta el primer dedo (Figura 14).

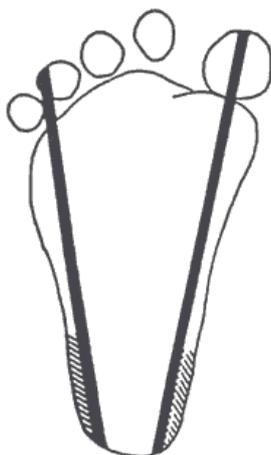


Figura 14. Esquema de las zonas seguras (zonas sombreadas) donde realizar la punción del talón, técnica de Blumenfeld (Blumenfeld, 1979)

La extracción se realiza con dispositivos de microlanceta, se deja fluir la sangre libremente, y tras desechar la primera gota, se recoge el resto impregnándola por una cara en papel Whatman 903, hasta traspasar completamente cada círculo impreso en el papel de filtro.

Tras la extracción se identifica la muestra y se recogen los datos demográficos del recién nacido en la Ficha del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana, la cual está identificada con el mismo código de barras que la muestra.

La muestra se deja secar a temperatura ambiente y se envía junto con la ficha cumplimentada correspondiente en un sobre a la Sección de Cribado Neonatal del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA).

4.2.3 Recepción de las muestras, identificación y registro informático

Todo este proceso se realiza según el protocolo PNT-CN-01: "Recepción de muestras, identificación y registro informático" de la sección de Cribado Neonatal del Laboratorio de Análisis Clínicos del HGUA.

Los sobres con las muestras y fichas con los datos del recién nacido se reciben en la sección de Cribado Neonatal comprobándose la existencia de todos los datos cumplimentados y la calidad de las muestras, fechándose y comprobándose la conformidad.

Se aceptan todas las muestras en las que el papel de filtro está completamente impregnado por las dos caras con cantidad suficiente para poder extraer un disco totalmente impregnado, con el taladro de muestras de 3 mm de diámetro.

Las muestras que no cumplen con los criterios de calidad preanalítica se anotan en la ficha del recién nacido y se comunica a los padres o tutores del niño para que remitan una nueva muestra al Laboratorio. Los errores u omisiones en la ficha del recién nacido se tratan de subsanar llamando inmediatamente por teléfono al centro de envío.

Los datos de las fichas de los recién nacidos se registran en la ficha informatizada del recién nacido con el programa de la Consellería de Sanidad MetaB. Dicho registro informático está oficialmente declarado en el DOCV nº5082 de 31 de agosto de 2005 y garantiza la confidencialidad de los datos contenidos en él. Posteriormente las fichas se archivan y conservan durante un periodo de cinco años, tras el cual se procede a su destrucción.

Las muestras se numeran y se conservan en recipientes herméticos en cámara frigorífica a $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ hasta la realización del análisis de TSH según el protocolo nacional establecido (Pámpols T, 2006).

4.2.4 Procesamiento de las muestras

4.2.4.1 Método de determinación de TSH en sangre desecada en papel

La cuantificación de TSH desecada en papel se realiza con el kit “AutoDELFIA® Neonatal hTSH” de Perkin Elmer.

I. Fundamento del método analítico

El método de análisis de la TSH es una inmunofluorescencia directa, tipo “sándwich” en fase sólida. El analito TSH se une por su fracción β al anticuerpo monoclonal fijado a la fase sólida y por la intersección de su fracción α - β a un anticuerpo monoclonal con Europio unido a sus cadenas pesadas.

Tras incubación y lavado, se le añade una solución intensificadora, que escinde el Europio del anticuerpo, formándose quelatos de Europio que emiten una radiación fluorescente cuya intensidad es proporcional a la concentración de TSH contenida en la muestra (Figura 15).

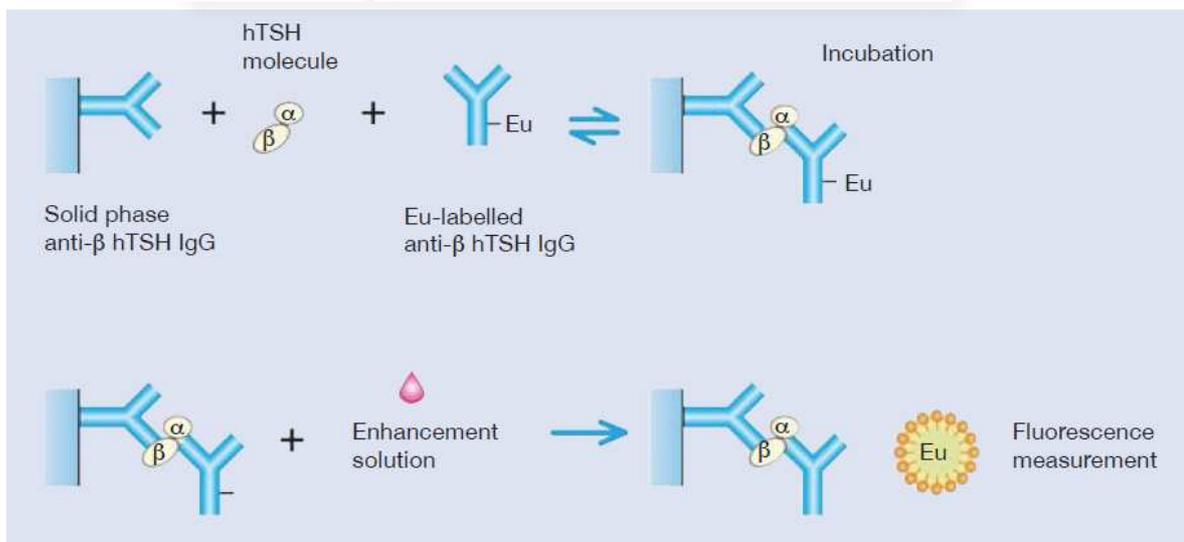


Figura 15. Esquema del método de determinación de TSH en sangre desecada “AutoDELFIA® Neonatal hTSH” de Perkin Elmer.

II. Características del método analítico

Precisión. La variación del ensayo DELFIA hTSH Neonatal dada por Perkin Elmer es

Valor total medio TSH (μ U/ml)	CV intraensayo	CV interensayo	CV total
15	7,00%	8,00%	10,60%
23,7	7,80%	9,00%	11,90%
66,1	7,50%	7,90%	10,90%

Sensibilidad analítica. La sensibilidad analítica del método es de 0,2 μ U/ml.

Reacción cruzada. La reacción cruzada del ensayo DELFIA hTSH Neonatal con otras hormonas dada por Perkin Elmer es:

Hormona	Concentración añadida	Concentración TSH (μ U/mL)
H. luteinizante (h LH)	250 U/l	<2
H. foliculoestimulante (h FSH)	250 U/l	<2
H. gonadotropina coriónica humana (hCG)	100000 U/l	<2

Los recién nacidos presentan valores de hLH, hFSH y hCG mucho menores a los del ensayo de reacción cruzada de Perkin Elmer, por lo que no se considera que haya reacción cruzada en las muestras analizadas.

III. Control de calidad

➤ Control de calidad interno

Cada vez que se realiza un ensayo de determinación de TSH en sangre desecada en papel, se incluyen dos controles de calidad interno (control de

calidad medio y control de calidad alto) para asegurar el correcto funcionamiento del método.

Los datos se procesan automáticamente en el programa informático Multical, el cual guarda la información a modo de registro gráfico e informático. Posteriormente los datos se pasan al programa informático MedlabQC, donde se almacenan y se aplican los criterios de aceptación y evaluación de los resultados (Figura 16).

Los criterios de aceptación para el control de calidad interno son:

- a) el valor medido debe encontrarse en el intervalo comprendido entre la $\bar{x} \pm 2$ SD dadas por el fabricante (Perkin Elmer),
- b) dos valores seguidos deben presentar un coeficiente de variación (CV) igual o inferior al 20%.

El intervalo de valores aceptables de TSH para el control de calidad medio son de (11,8 - 17,6 μ U/ml), y para el control de calidad alto son de (47,9 - 71,7 μ U/ml).

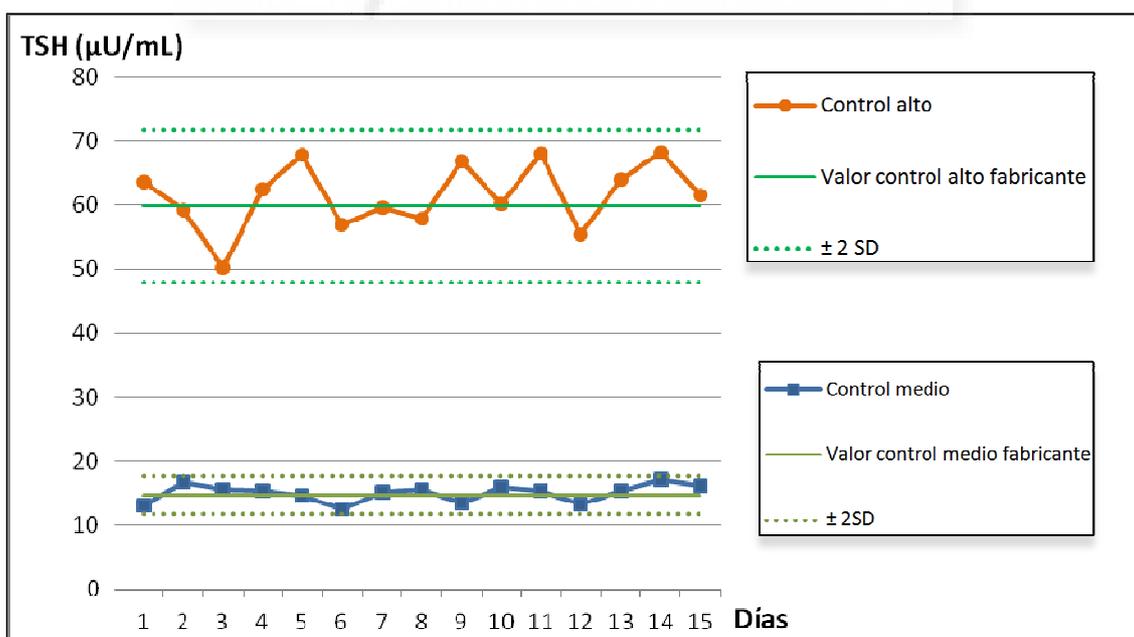


Figura 16. Representación de los controles de calidad internos (medio y alto). Muestra del periodo comprendido entre los días 1 al 15 de septiembre de 2011.

Si no se cumplen los criterios de aceptación se rechaza el ensayo, y se repite una vez solucionadas las causas del rechazo.

➤ Control de calidad externo

Para la realización de una intercomparación de la calidad con respecto a otros laboratorios se participa en los siguientes programas:

-Evaluación trimestral del programa de calidad externo de “Infant Screening Quality Assurance Program” del Center for Disease Control (CDC) Atlanta, EEUU, consistente en cinco controles impregnados en papel, para analizar en cinco series analíticas diferentes.

-Evaluación mensual del Programa de “Evaluación Externa de la Calidad en la Detección Precoz Neonatal” de la Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE), consistente en analizar tres controles. A éste programa de calidad externo pertenecen todos los centros de cribado de hipotiroidismo congénito nacionales (Figura 17).

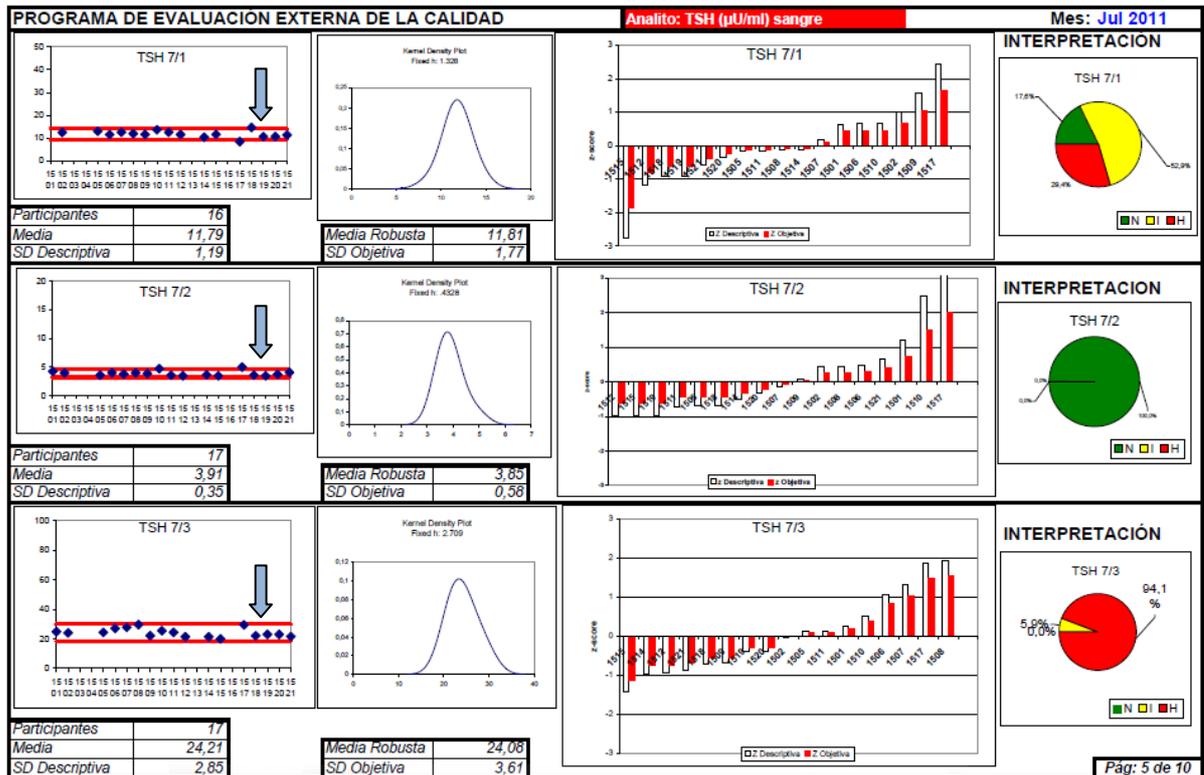


Figura 17. Controles externos de calidad de AECNE. Muestra del mes de julio del 2011, en el que la flecha indica los controles analizados en el HGUA.

La concentración de los controles de calidad externos no es conocida hasta después de enviar el resultado a los programas externos de calidad.

Si el resultado está fuera del rango aceptable, se realiza un seguimiento del parámetro mediante los controles internos y se revisan los ensayos de ese mes para valorar a criterio del responsable de la sección de Cribado Neonatal del HGUA su aceptación o rechazo.

4.2.4.3 Protocolo de trabajo

Todo este proceso se realizó según el protocolo PNT-CN-02 “Determinación de TSH en sangre desecada” de la sección de Cribado Neonatal del Laboratorio de Análisis Clínicos del HGUA.

Para ello se deja atemperar todos los reactivos a temperatura ambiente y se enciende el Contador de fluorescencia Delfia 2D 1420 (CN-1) una hora antes de realizar la prueba, con el fin de que se realice un autotest para asegurar las condiciones óptimas de trabajo. En el caso de no cumplir los requisitos especificados en el PNT-CN2 se detiene el ensayo hasta su corrección por el servicio técnico.

Se prepara la “Hoja de trabajo de TSH” contenida en el protocolo PNT-CN-02, sobre una plantilla como la que se adjunta como anexo, identificando la posición de cada uno de los puntos de la curva de calibración, controles y muestras.

Siguiendo su situación en la hoja de trabajo se troquelan discos de 3 mm de diámetro, con la taladradora automática Wallac DBS Puncher, de la curva de calibrado, de las muestras desecadas en papel y de los controles y se depositan en los pocillos de la placa microtiter correspondientes.

Se añaden 200 µl de solución de trazador diluida a cada uno de los pocillos con un dispensador automático y se agita toda la placa durante 10 minutos en el agitador automático DELFIA Plateshake. Transcurrido ese tiempo se cubre la placa protegiéndola de la luz y se conserva a 5 ± 3 °C durante 24 horas.

Posteriormente se saca la placa y se agita 1 hora a temperatura ambiente.

Se retiran los discos y el líquido de la placa utilizando el lavador automático DELFIA Platewash en la opción aspirado y se lavan, en seis ciclos de lavado, cada una de las tiras con el lavador automático.

Se añaden 200 µl de solución intensificadora en cada uno de los pocillos utilizando un dispensador automático y se deja agitar durante 5 minutos.

Se realiza la lectura en el Contador de fluorescencia Delfia 2D 1420 que envía las señales de fluorescencia al programa informático Multical, donde se procesan los datos y a su vez traslada la información a modo de registro, a cada una de las fichas correspondientes al programa MetaB.

4.2.5. Interpretación de los resultados y protocolo de actuación

Los resultados se interpretan siguiendo el algoritmo del cribado del HC del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana (Figura 18).

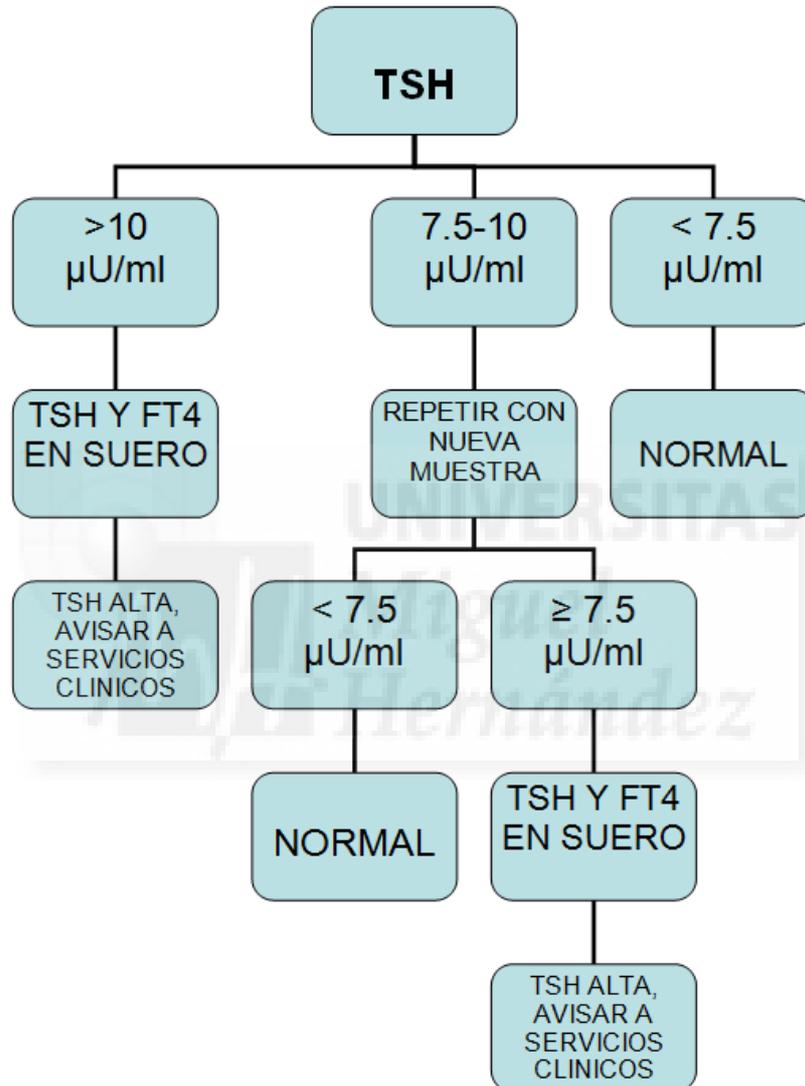


Figura 18. Algoritmo del cribado de Hipotiroidismo Congénito del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana.

Todas las muestras con valor de TSH < 7,5 μU/ml se informan como negativo a los padres o tutores del niño por vía correo postal y salen del programa.

En todos aquellas TSH $\geq 7,5$ $\mu\text{U/ml}$, se solicita por vía telefónica una nueva muestra de sangre desecada en papel y una de suero para confirmar los resultados, tanto por el mismo método (inmunofluorescencia directa AutoDELFIA® Neonatal hTSH) como por otro método distinto (TSH y T4 con electroquimioluminiscencia de Cobas e411 de Roche Diagnostic). Tras su análisis pueden darse tres situaciones:

a) Si la TSH en sangre desecada en papel es $< 7,5$ $\mu\text{U/ml}$, la TSH en suero < 25 $\mu\text{U/ml}$ y la T4 libre entre 0,8-2 ng/dl, el resultado se considera negativo.

b) Si la TSH en sangre desecada en papel es > 10 $\mu\text{U/ml}$, la TSH en suero > 10 $\mu\text{U/ml}$ y la T4 libre $< 0,8$ ng/dl, el resultado se considera positivo. Se llama por vía telefónica a los padres y se les remite a las unidades de seguimiento correspondientes para el tratamiento y seguimiento del recién nacido.

c) En los casos dudosos en los que la TSH esté entre 7,5-10 $\mu\text{U/ml}$ se solicita una nueva muestra de sangre desecada en papel para repetir la determinación de TSH. Si ésta es $< 7,5$ $\mu\text{U/ml}$ se procede de la misma forma que en el punto a. Si es $\geq 7,5$ $\mu\text{U/ml}$ se determina la TSH y la FT4 en suero y se les remite a las unidades de seguimiento correspondientes para el seguimiento del recién nacido. Si se confirma que la TSH en suero > 10 $\mu\text{U/ml}$ y la T4 libre $< 0,8$ ng/dl, el resultado se considera positivo.

En este estudio se excluyeron todos los diagnosticados de hipotiroidismo congénito según el algoritmo descrito. Sólo se analizaron los valores de TSH en sangre desecada en papel (método inmunofluorescencia directa AutoDELFIA) de la primera muestra recibida de los recién nacidos incluidos en el programa de cribado que cumplieron los criterios de inclusión/exclusión, excepto de los recién nacidos pretérmino que se analizaron también los valores de TSH de muestras sucesivas (segunda, tercera, etc).

4.3 Realización de la base de datos

4.3.1 Recogida de variables

Todos los datos se anonimizaron y se recogieron en una base de cálculo tipo Excel.

Por medio del programa informático MetaB, se recogieron de forma automática los siguientes datos de los RNP y de los RNT: edad gestacional (semanas y días), fecha de extracción de la muestra y fecha de nacimiento.

De los RNP, se recogió de forma manual a través de las fichas individuales del programa de cribado neonatal, los siguientes datos: sexo (hombre o mujer), peso al nacimiento (gramos), parto gemelar (sí o no) y edad de la madre (años cumplidos).

Una vez analizadas las muestras de los RNP y de los RNT, se registraron los resultados de la TSH en la base de datos.

4.3.2 Depuración de la base de datos

La introducción de datos en una base de cálculo Excel está sujeta a errores debido a que el investigador no dispone de protecciones o reglas de validación que impidan la entrada de valores erróneos, limitando así la entrada exclusiva de valores válidos.

Por esta razón se depura la base de datos a través de chequeos lógicos para detectar todos los errores, por medio de sintaxis de SPSS, según el siguiente proceso (Doménech JM 2012) (Figura 19).

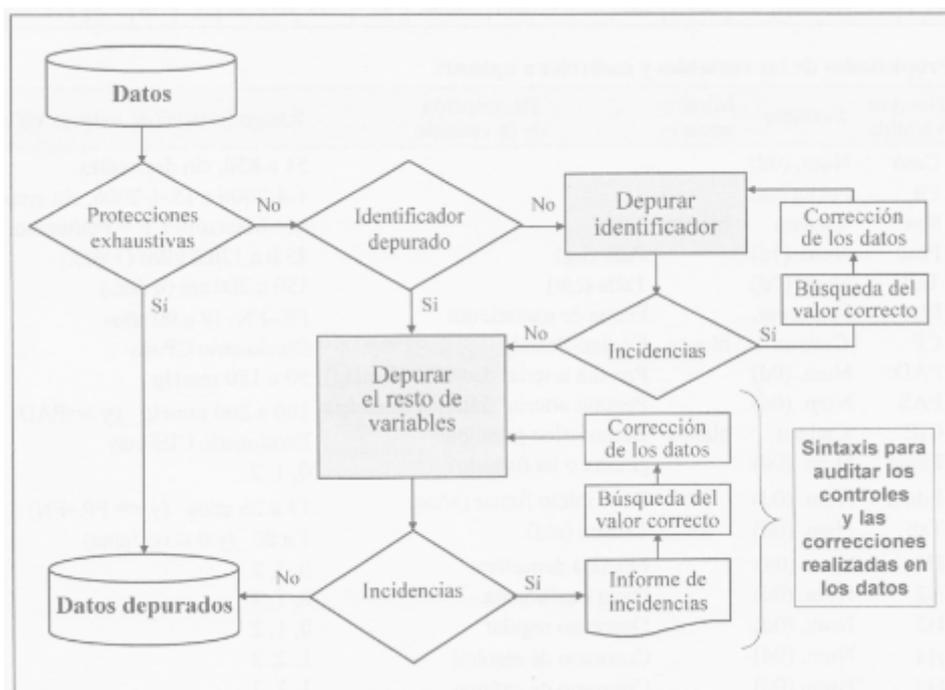


Figura 19. Secuencia del proceso de depuración de los datos

Una vez detectados los errores, se corrigen de la siguiente forma:

- 1) si los datos están disponibles en las fichas individuales del recién nacido, se cambian los valores erróneos por valores correctos
- 2) si no es posible obtener dicha información, se cambian los valores erróneos por valores en blanco (missing).

Los errores detectados fueron los siguientes:

- a) 1102 Casos repetidos
- b) 60 Casos con edad gestacional fuera de rango
- c) 37 Casos con fecha fuera de rango

4.3.3. Base de datos primaria y bases de datos secundarias

Todos los datos de los RNPT y de los RNT depurados, constituyen la base de datos primaria llamada “Base de datos primaria de TSH 2008-2012”.

De esa base de datos primaria se extraen tres bases de datos secundarias, que serán las que se empleen en los análisis estadísticos. Estas bases de datos secundarias son:

a) Sanos a término y sanos prematuros. Contiene de los RNP (n=6.520) y de los RNT (n=78.980) las variables TSH, días de vida en la extracción y edad gestacional, para la comparación de las concentraciones de TSH entre estos dos grupos.

b) Sanos prematuros con todas las variables. Contiene de los RNP (n=6.520), las variables: TSH, edad gestacional, peso al nacer, edad de la madre, días de vida al nacer, sexo, parto gemelar, grado de prematuridad, grado de bajo peso al nacer, bajo peso al nacer (inmadurez), mes frío y días de vida al nacer categorizado. Con ella se buscará analizar en los RNP la influencia de esas variables en la concentración de TSH.

c) Evolución de los prematuros. En las que se recogen los RNP de los que se recibieron más de una muestra (n=611). Con ella se buscará analizar la influencia de la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides en los RNP con el paso de los días de vida, sobre las concentraciones de TSH. Para ello la base de datos contiene las variables: edad gestacional, grado de prematuridad, fecha de nacimiento, fecha de extracción y TSH.

Con la fecha de extracción de las segundas, terceras muestras y sucesivas, se calculan las variables edad gestacional corregida 2, edad gestacional corregida 3, etc. Estas variables pretenden representar la edad gestacional que le correspondería al RNP en la segunda muestra, tercera muestra y sucesivas.

4.3.4. Calidad de los datos: valores perdidos

Tras realizar la depuración de los datos, se revisa la calidad de los mismos

- Base de datos “Sanos a término y sanos prematuros”

Variable	Valores perdidos
Edad gestacional	0 (0,0%)
TSH	0 (0,0%)
Días de vida en la extracción	4.605 (5,4%)

La variable días de vida en la extracción posee un número de perdidos >5%, la mayor parte de ellos (n=4.591) corresponden al grupo control RNT.

La causa de la existencia de los valores perdidos se debe a que la enfermera que recogió los datos del niño no anotó la fecha de extracción necesaria para el cálculo de la variable días de vida en la extracción.

La causa del no registro no se debió a una condición concreta del niño, sino a un descuido, por lo que se considera que los valores desconocidos son completamente al azar.

Este hecho sumado al hecho de que existen 12 controles (RNT) por cada caso (RNP) y de que la mayoría de los valores desconocidos son del grupo RNT, se considera que los valores perdidos no influyen en los resultados hallados.

- Base de datos “Sanos prematuros con todas las variables”

Variable	Valores perdidos
Edad gestacional	0 (0%)
TSH	0 (0%)
Días de vida en la extracción	14 (0,2%)
Peso al nacer	140 (2,2%)
Edad de la madre	85 (1,3%)

Sexo	8 (0,0%)
Gemelos	0 (0,0%)

- Base de datos “Evolución de los prematuros”

No existen valores perdidos.

4.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico de las bases de datos depuradas se realiza con el programa IBM SPSS Statistics versión 22.

La distribución de TSH, en numerosas poblaciones analizadas, se caracteriza por no seguir una distribución normal (Glinoe D, 2010; Stagnaro-Green A, 2011; Fontes R, 2013; Feng Y, 2014) y presentar una asimetría positiva, es decir, una cola a la derecha.

En el presente estudio, la TSH no sigue una distribución normal ni en RNT, ni en RNP por ninguna de las variables, resultando significativa la prueba Kolgomorov-Smirnov $p < 0,01$. La distribución de TSH (Figura 20) se caracteriza por una asimetría positiva con un coeficiente de asimetría de Fisher=2,18 y por ser leptocúrtica con un coeficiente de curtosis Fisher = 8,19.

Se emplea sin éxito, la normalización de la distribución de TSH mediante la transformación logarítmica y la transformación de Box-Cox (Box G, 1964), por lo que se opta por tratar la variable TSH sin transformar para su análisis.

La variable independiente o resultado es siempre la misma, TSH, que es una variable continua. Dependiendo de las variables dependientes analizadas se emplea una prueba estadística u otra.

Para las variables continuas se emplea el análisis por regresión simple.

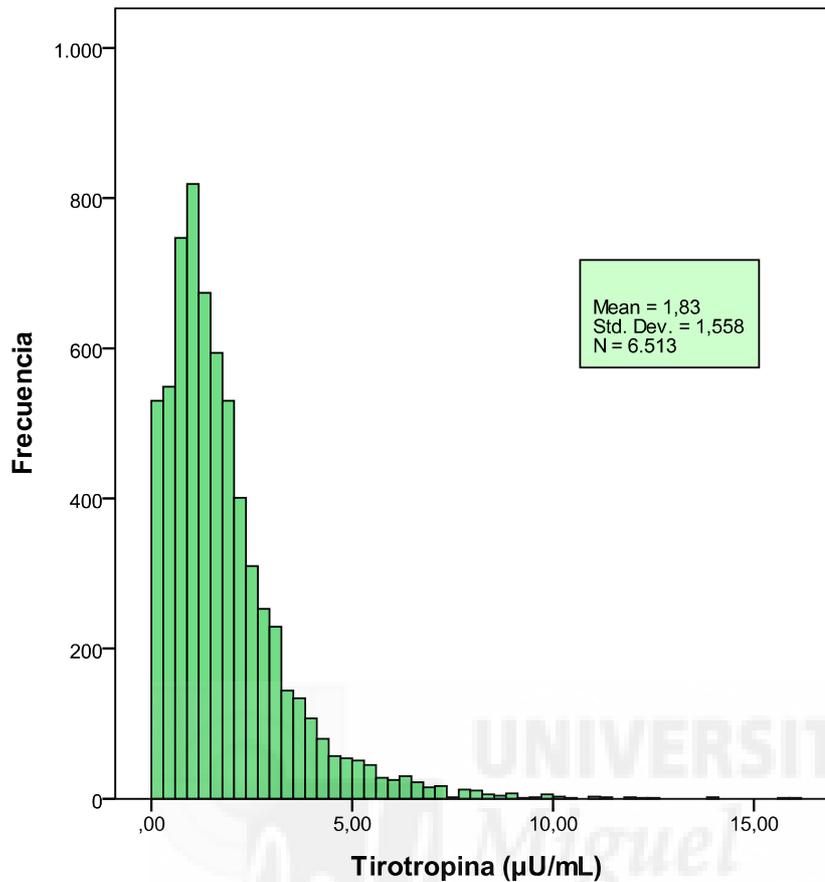


Figura 20. Distribución de las concentraciones de TSH

Para comparar las medias de TSH de las variables categóricas con dos categorías, se emplea la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney, debido a que la TSH no siguen una distribución normal y debido a que no hay homogeneidad de variancias, prueba de Levene $p < 0,01$.

El problema de prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney es que a pesar de obtener el grado de significación, se desconoce el grado de la diferencia entre medias. Para conocer el grado de diferencia, en aquellas pruebas que resultaron significativas se empleó el procedimiento de Hodges-Lehmann que permite estimar el intervalo de confianza de la diferencia entre dos medianas bajo el supuesto de que las dos distribuciones son idénticas en la forma y sólo difieren en la posición (Conover 1999; Lehmann, 1975).

Para comparar las medias de TSH de las variables categóricas con más de dos categorías, se emplea la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. La prueba paramétrica ANOVA es muy robusta frente a la vulneración del supuesto de normalidad. Sin embargo, la falta de homogeneidad de variancias, prueba de Levene $p < 0,01$, desaconseja su uso.

Una limitación de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis en caso de que resulte significativa, es que no indica entre que categorías es significativa la diferencia de medias. Además tampoco muestra la diferencia entre medias entre los grupos.

Por ello en aquellas pruebas que resultaron significativas se empleó el procedimiento de Hodges-Lehmann para el cálculo de la diferencia entre dos medianas, calculando para cada comparación entre las diferentes categorías.

Para las variables categóricas con más de dos categorías ordenadas, se empleó además la prueba no paramétrica de tendencia de Jonckheere-Terpstra, para comprobar la hipótesis de tendencia de las medias.

Las variables se expresan con la n correspondiente, con la media y la mediana para saber la tendencia central de los datos y con la desviación estándar, intervalo intercuartílico (IQR), intervalo de confianza al 95% de la media, intervalo de confianza (IQ) al 95% de la mediana para conocer el grado de dispersión.

En el análisis de la influencia del grado de prematuridad sobre la concentración de TSH, con el objetivo de eliminar la interferencia de las variables que también puedan influir, se emplea un diseño con medidas intrasujeto. De esta forma se compara las TSH de cada sujeto consigo mismo en diferentes periodos: cuando es RNEP, RNMP y RNPT. Para ello se emplea la prueba no paramétrica de Wilcoxon por ser la de mayor potencia.

Se emplea también un modelo de regresión múltiple para eliminar la influencia de unas variables sobre las otras en el análisis de su influencia sobre la modificación de la concentración de TSH.

Se realiza el cálculo de los intervalos de referencia de cada subclase cuya variable en la regresión múltiple resulta significativa. Para realizar el cálculo de los

intervalos de referencia se siguen las recomendaciones de la CLSI (CLSI, 2005) y de la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) (Solberg HE, 2004).

Como criterio de valor lejano se toma el criterio de Tukey. Para subclases de $n > 120$ se emplea el método no paramétrico basado en el percentil 2,5 y 97,5 y para las subclases de $n < 120$ se emplea el método robusto de Horn y Pesce (Horn P, 1998).

4.5 Consideraciones ético-legales

Los datos obtenidos de la base de datos de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana (Metab) se registran previa autorización libre, voluntaria e informada de los padres o tutores legales del recién nacido, siguiendo lo establecido según la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

Se preservan los datos de identificación personal de los recién nacidos, separados de los de carácter clínico-asistencial, asegurando de esta manera el anonimato de los mismos, de conformidad con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal, y en la Ley 14/1986 de 25 de abril General de Sanidad.

Todas las muestras de sangre se tratan siguiendo la guía de protección de los trabajadores frente a las infecciones ocupacionales (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005).



5. Resultados



5. RESULTADOS

5.1. Características descriptivas de la población

5.1.1 Descriptivos RNP vs RNT

Se detallan las características descriptivas de la población de RNP y de RNT (Tabla 1), para un mejor entendimiento e interpretación de las diferencias observadas de TSH entre grupos.

Tabla 1. Características descriptivas de los RNT y de los RNP

	RNP (n=6520)		RNT (n= 78.980)	
	Media (SD)	Mediana (IQR)	Media (SD)	Mediana (IQR)
TSH (μ U/ml)	1,84 (1,56)	1,45 (1,58)	2,31 (2,18)	1,66 (2,05)
Edad gestacional (semanas)	34,50 (2,34)	35,00 (2,00)	39,37 (1,26)	39,29 (1,57)

Se observa que la tasa de nacimientos prematuros en la provincia de Alicante en el periodo 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012, es de 7,29%.

Se observa en los RNT que la edad gestacional media es de 39,37 semanas debido a que el periodo 39-40 semanas es en el que se da el mayor número de nacimientos.

En los RNP la media de valores de la edad gestacional es de 34,50 semanas, debido a un mayor número de nacimientos en grado de prematuridad menores (88% RNPT) que en mayores (2,4% RNEP).

5.1.2 Descriptivos RNP

Se detallan las características descriptivas de los RNP (Tabla 2 y Tabla 3), que son muy importante a la hora de valorar e interpretar los intervalos de referencia posteriormente calculados.

Además facilita la comparación de los resultados y de los intervalos de referencia con los de otros estudios con diferentes poblaciones, además de permitir un mejor entendimiento de los resultados que se muestran posteriormente, e interpretación de los mismos.

Tabla 2. Características descriptivas de las variables continuas de los RNP

RNP (n=6520)		
Variable	Media (SD)	Mediana (IQR)
TSH (μ U/ml)	1,84 (1,56)	1,45 (1,58)
Edad gestacional (semanas)	34,50 (2,34)	35,00 (2,00)
Peso al nacer	2330,61 (2,35)	2390,00 (760,00)
Edad de la madre	31,62 (5,68)	32,00 (8,00)
Días de vida al nacer	4,45 (3,62)	4,00 (2,00)

Se observa una media adecuada de peso al nacer (> 1500 g), una edad media de la madre de 30 años y una media de 4,45 días de vida al nacer.

Tabla 3. Características descriptivas de las variables categóricas de los RNP

RNP (n=6520)			
Variable	Categoría	N	Frecuencia
Sexo	<i>Hombre</i>	3510	53,9 %
	<i>Mujer</i>	3002	46,1 %
Gemelos	<i>No</i>	5014	76,9 %
	<i>Sí</i>	1506	23,1 %
Grado de prematuridad	<i>RNEP</i>	159	2,4 %
	<i>RNMP</i>	609	9,3 %
	<i>RNPPT</i>	5752	88,2 %
Grado de bajo peso al nacer	<i>Extremadamente bajo</i>	185	2,9 %
	<i>Muy bajo</i>	435	6,8 %
	<i>Bajo</i>	3106	48,7 %
	<i>Normal</i>	2656	41,6 %
Bajo peso al nacer (inmadurez)	<i>No</i>	5760	90,3 %
	<i>Sí</i>	620	9,7 %
Mes frío	<i>No</i>	3899	66,3 %
	<i>Sí</i>	1980	33,7 %
Días de vida categorizado	<i>Adecuado</i>	5879	90,4 %
	<i>Temprana</i>	241	3,7 %
	<i>Tarde</i>	386	5,9 %

Se observa un ligero aumento del porcentaje de hombres respecto a las mujeres en la población.

Como era de esperar se observa un menor porcentaje de gemelos que de no gemelos, un menor porcentaje de grupos de alto grado de prematuridad con respecto a grupos de bajo grado de prematuridad, un menor porcentaje de bajo peso al nacer respecto a ausencia de bajo peso y un menor porcentaje de muestras tempranas en función de los días de vida respecto a muestras adecuadas o tardes.

Se observa similar distribución del número de nacimientos en todos los meses de de los años analizados.

5.2. Comparación de TSH entre prematuros y nacidos a término

5.2.1. Prevalencia global (Incidencia acumulada en periodo) de hipotiroidismo congénito en prematuros y nacidos a término

-El número de prematuros con hipotiroidismo congénito en el periodo 2008-2012 fue de 6, de un total de 6.526 nacimientos prematuros. Lo que supone una prevalencia global (incidencia acumulada en el periodo) de HC en los RNP de 0,92 ‰, o lo que es lo mismo, 1/1.088 nacimientos prematuros.

-El número de nacidos a término con hipotiroidismo congénito en el mismo periodo fue de 39, de un total de 83.412 a término. Lo que supone una prevalencia de HC en los RNT de 0,47 ‰, ó 1/2.130 nacimientos a término.

-La prevalencia global de hipotiroidismo congénito en el periodo 2008-2012 fue de 0,50 ‰ ó 1/1.991 nacimientos.

5.2.2. Comparación de concentración de TSH entre prematuros y nacidos a término

Se analiza la diferencia entra la concentración de TSH entre prematuros y nacidos a término.

Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión (Tabla 1). Las unidades de todos los datos son $\mu\text{U/ml}$.

Tabla 4. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los grupos de RNP y RNT

Grupo	N	Media (SD)	IC95% Media	Mediana (IQR)	IC95% Mediana
RNP	6.161	1,84 (1,56)	1,80-1,87	1,45 (1,58)	1,42-1,49
RNT	78.980	2,30 (2,18)	2,29-2,32	1,66 (2,05)	1,65-1,67

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente, observándose una asimetría positiva en ambos grupos, con una cola de valores a la derecha.

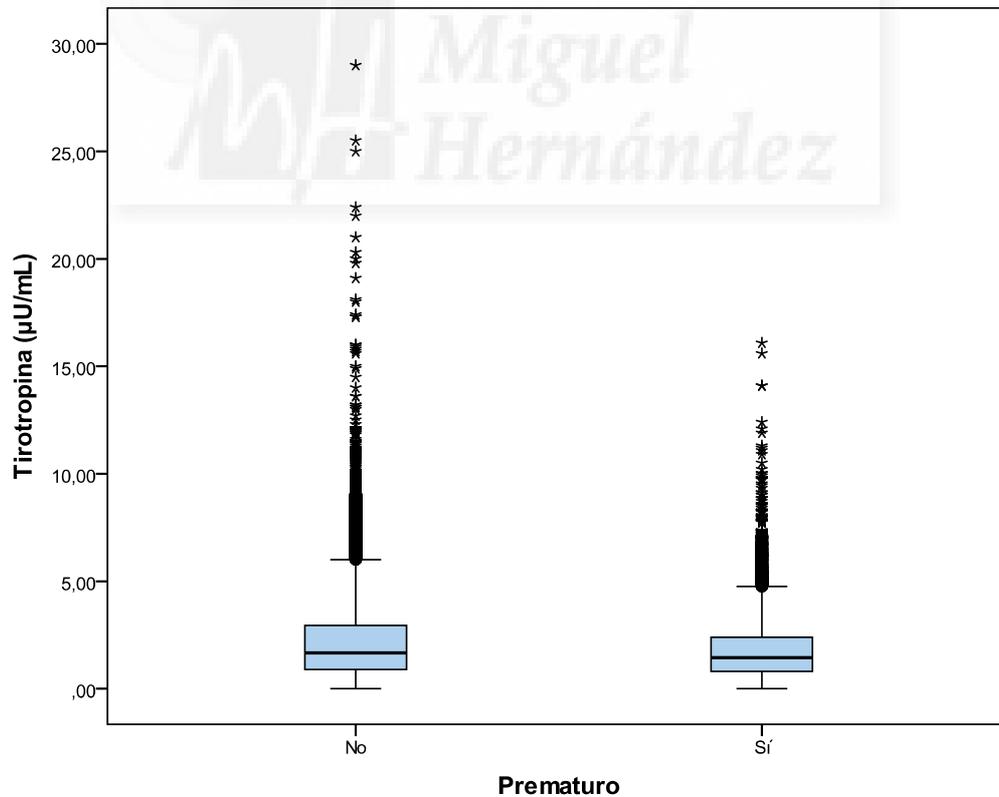


Figura 21. Representación gráfica de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en el grupo de RNPT y RNT.

Analizándose la diferencia entre medias con el test no paramétrico de U Mann-Whitney, se observan que existen diferencias significativas entre ellas ($p < 0,01$).

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

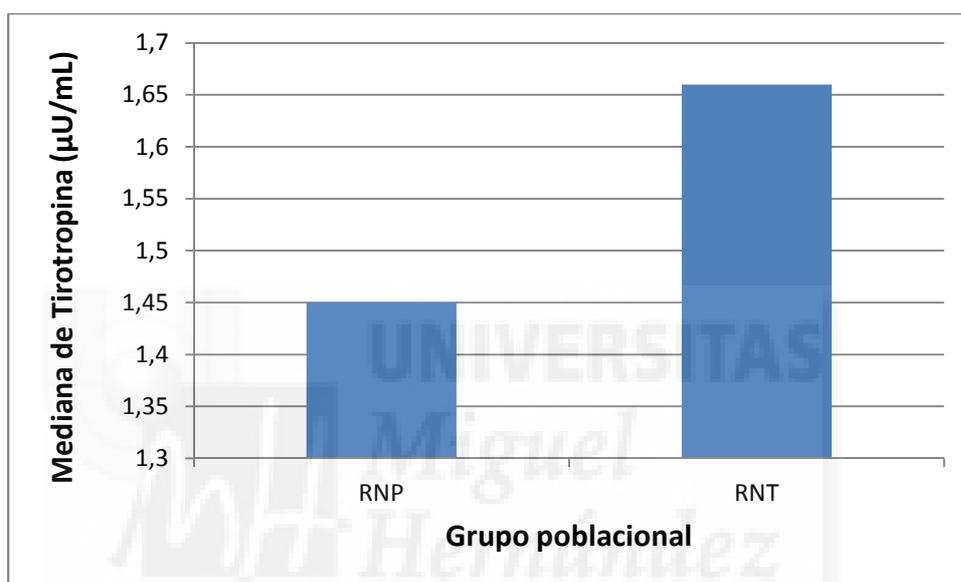


Figura 22. Representación de las medianas de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los grupos RNT y RNP.

Se observa que la diferencia de medianas es de $0,22 \mu\text{U/ml}$ con un IC95% de la diferencia de $(0,19-0,25 \mu\text{U/ml})$, es decir, los RNT poseen una diferencia en la concentración de TSH de $0,22 \mu\text{U/ml}$ mayor que la de los RNP.

5.2.3. TSH según días de vida en prematuros y nacidos a término

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en RNP y RNT en función de los días de vida que tenían el día de la extracción, para observar su evolución en el tiempo después del nacimiento.

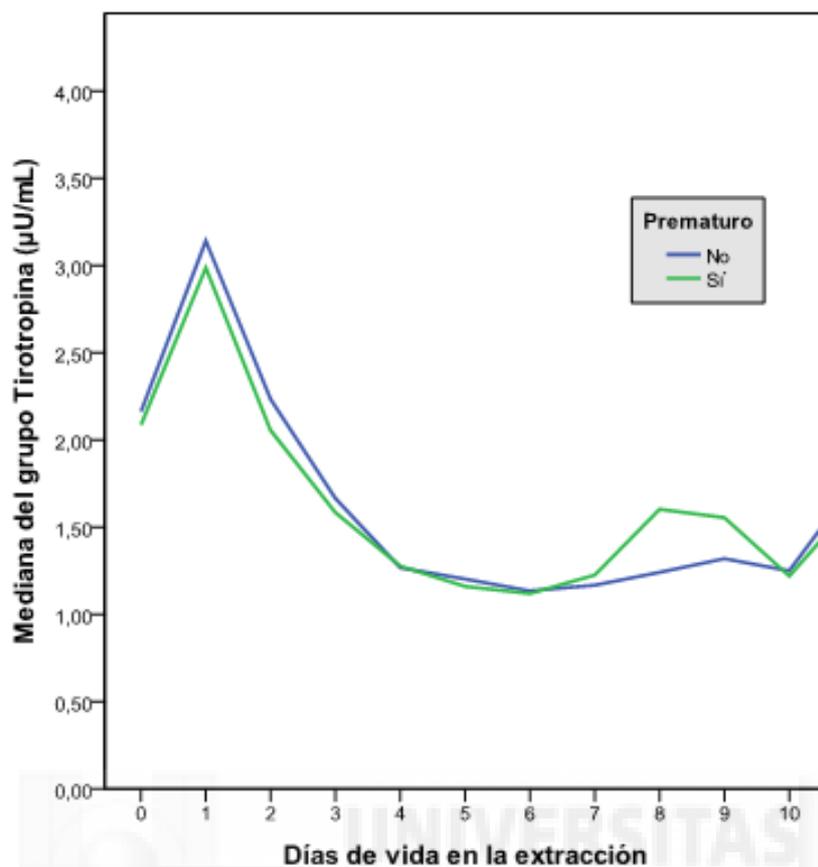


Figura 23. Evolución de la TSH con los días de vida en RNT y RNP

Se observa que la distribución de las medianas de la concentración de TSH en función de los días de vida es similar en ambos grupos, caracterizándose por unas concentraciones de TSH más altas en el periodo de 0 a 1 día, con un pico máximo de concentración el primer día, para posteriormente ir disminuyendo progresivamente hasta el 6°-7° día de vida.

Se observa que las medianas de concentración de TSH de los RNP siguen una distribución casi paralela a la de los RNT pero con concentraciones más bajas hasta el 6°-7° día.

5.3. Análisis de las variables implicadas en la variación de la concentración de TSH en prematuros

5.3.1. Variación de TSH según el grado de prematuridad

El grado de prematuridad es una variable categórica, derivada de la variable continua edad gestacional. Al categorizar una variable continua se puede perder información, por lo que previamente al análisis de la influencia del grado de prematuridad en la concentración de TSH, se realiza el análisis entre edad gestacional y TSH.

Al ser ambas variables continuas se emplea el análisis estadístico de regresión lineal observándose una R de 0,067, y denotando que existen diferencias significativas ($p < 0,01$). El coeficiente estandarizado de edad gestacional es de 0,04 $\mu\text{U/ml}$ con un IC95% de (0,03-0,06 $\mu\text{U/ml}$), es decir, cada vez que aumenta una semana en la edad gestacional, aumenta 0,04 $\mu\text{U/ml}$ de media el valor de TSH.

Se categoriza la variable edad gestacional, en función del grado de prematuridad propuesto por la OMS. Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 5. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grado de prematuridad.

Grupo	N	Media (SD)	IC 95% Media	Mediana (IQR)	IC 95% Mediana
RNEP	159	1,36 (1,63)	1,11-1,61	0,91 (1,73)	0,69-1,16
RNMP	606	1,75 (1,78)	1,61-1,90	1,33 (1,80)	1,18-1,47
RNPT	5.748	1,85 (1,53)	1,81-1,89	1,47 (1,55)	1,43-1,51
RNT	79.019	2,30 (2,18)	2,29-2,32	1,66 (2,05)	1,65-1,67

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente, observándose que la asimetría positiva en los grupos es mayor según disminuye el grado de prematuridad:

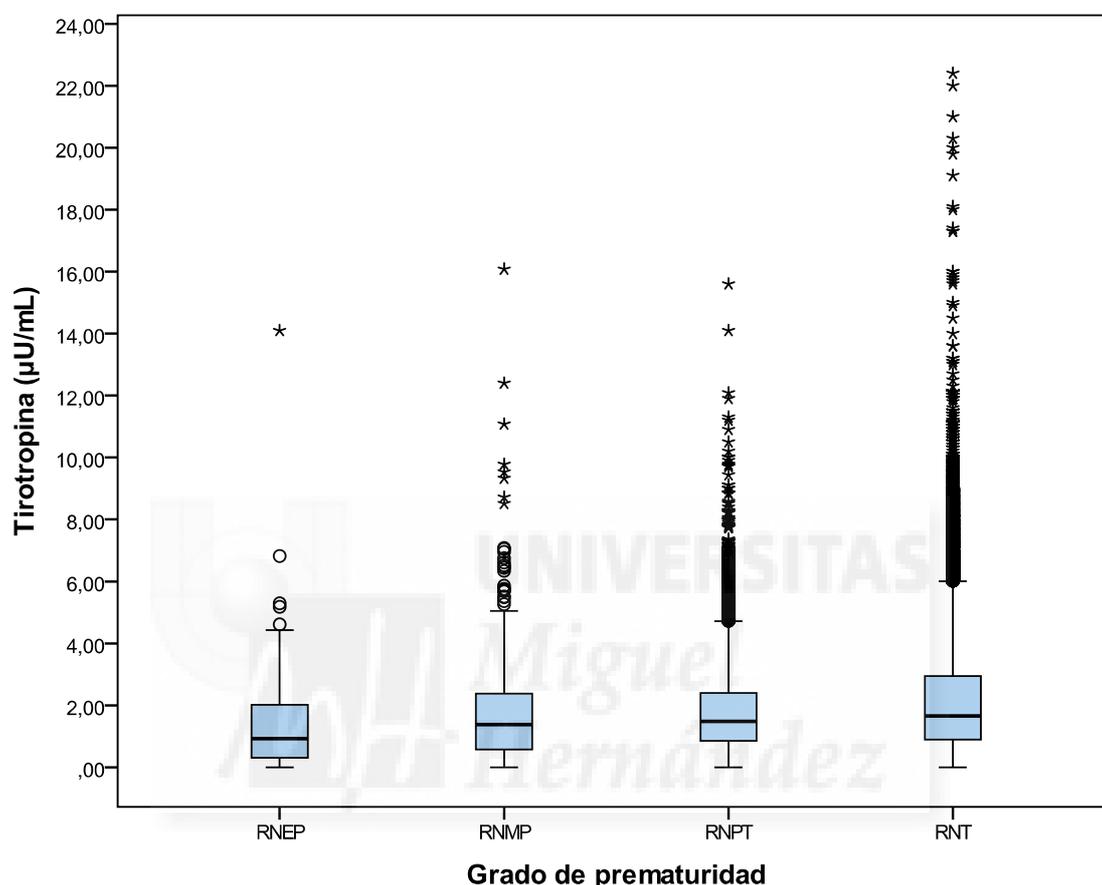


Figura 24. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupos de grado de prematuridad.

Analizándose la diferencia entre medias con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, se observa que la diferencia entre grupos es significativa ($p < 0.01$).

Como la variable grado de prematuridad es una variable con categorías ordenadas interesa comprobar la hipótesis de tendencia de medias, es decir, si existe una diferencia de medias en el mismo sentido, si éstas van aumentando o disminuyendo progresivamente conforme disminuye el grado de prematuridad.

En lugar del test de Kruskal-Wallis que es sensible a las diferencias de medias en cualquier sentido, se aplica el test de tendencia de Jonckheere-Terpstra, observándose

una tendencia negativa y significativa ($p < 0,01$), en sintonía con el análisis entre la concentración de TSH y la edad gestacional. Dicha tendencia negativa indica que cuando disminuye el grado de prematuridad aumenta la concentración de TSH.

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

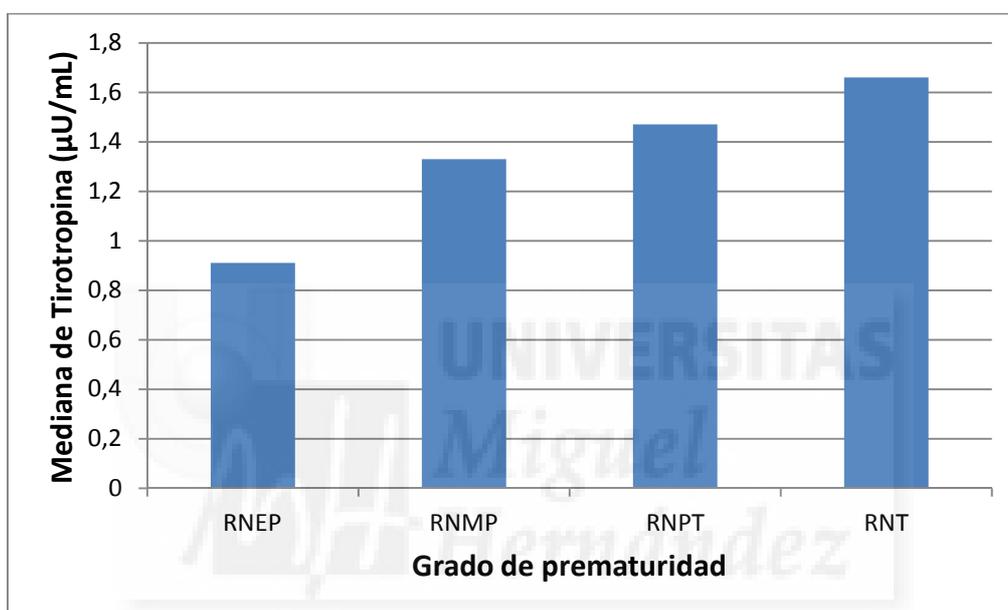


Figura 25. Medianas de los valores de TSH ($\mu\text{U}/\text{mL}$) entre los tres grupos de grado de prematuridad y RNT.

Observándose que las diferencias entre medianas son:

Tabla 6. Diferencias de medianas e intervalo de confianza entre los grupos de grado de prematuridad.

Diferencia medianas (IC 95%)	RNMP	RNPT	RNT
RNEP	-0,30(-0,49– -0,11)*	-0,50(-0,67 – -0,34)*	-0,68(-0,88– -0,49)*
RNMP		-0,19(-0,28 – -0,09)*	-0,35(-0,46– -0,24)*
RNPT			-0,19(-0,23– -0,16)*

*Diferencia significativa ($< 0,01$)

5.3.2. Variación de TSH según el peso al nacer

En el análisis de TSH con el peso al nacer como variable continua se observa mediante regresión lineal que no existen diferencias significativas ($p=0,27$).

Se categoriza el peso en función de bajo peso al nacer definida por la OMS. Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 7. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de peso de los recién nacidos pretérmino analizados.

Grupo	N	Media (SD)	IC 95% Media	Mediana (IQR)	IC 95% Mediana
Normal (≥ 2500 g)	2655	1,83 (1,50)	1,78-1,89	1,45 (1,56)	1,39-1,50
Bajo (1500-2499 g)	3100	1,84 (1,56)	1,78-1,89	1,44 (1,55)	1,39-1,50
Muy bajo (1000-1499 g)	433	1,77 (1,63)	1,61-1,92	1,42 (1,85)	1,21-1,59
Extremadamente bajo (<1000 g)	185	1,63 (2,08)	1,33-1,93	1,11 (1,69)	0,88-1,42

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente, observándose que la asimetría positiva en los grupos normal y bajo es mayor que en los grupos muy bajo y extremadamente bajo:

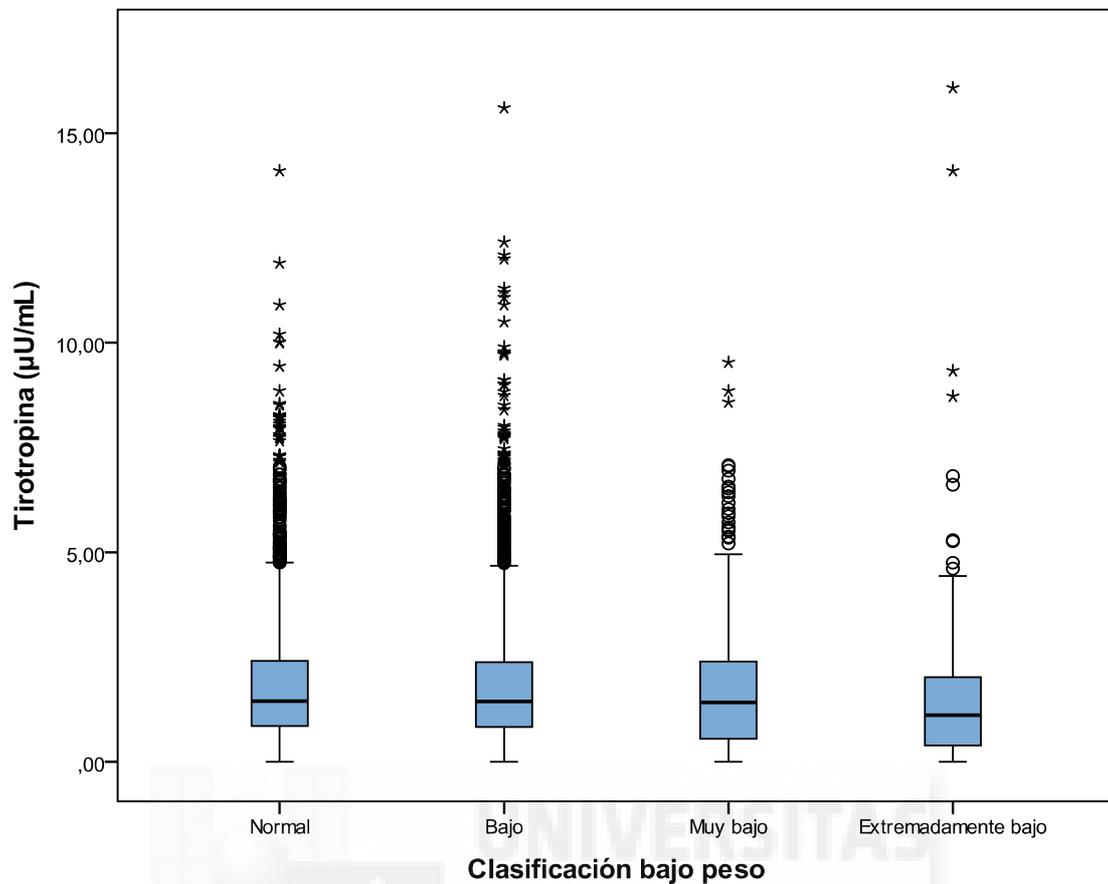


Figura 26. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de peso al nacer de los niños pretérmino analizados.

Analizándose la diferencia entre medias con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, se observa que existen diferencias significativas $p < 0,01$. El test de tendencia de Jonckheere-Terpstra es significativo ($p < 0,01$), observándose una tendencia positiva, es decir, al aumentar el peso aumenta también la concentración de TSH.

Estos test indican que existen diferencias significativas entre grupos, pero no entre cuáles, ni en qué medida. Para ello se comparan cada grupo con el resto, mediante el test no paramétrico de U Mann-Whitney.

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

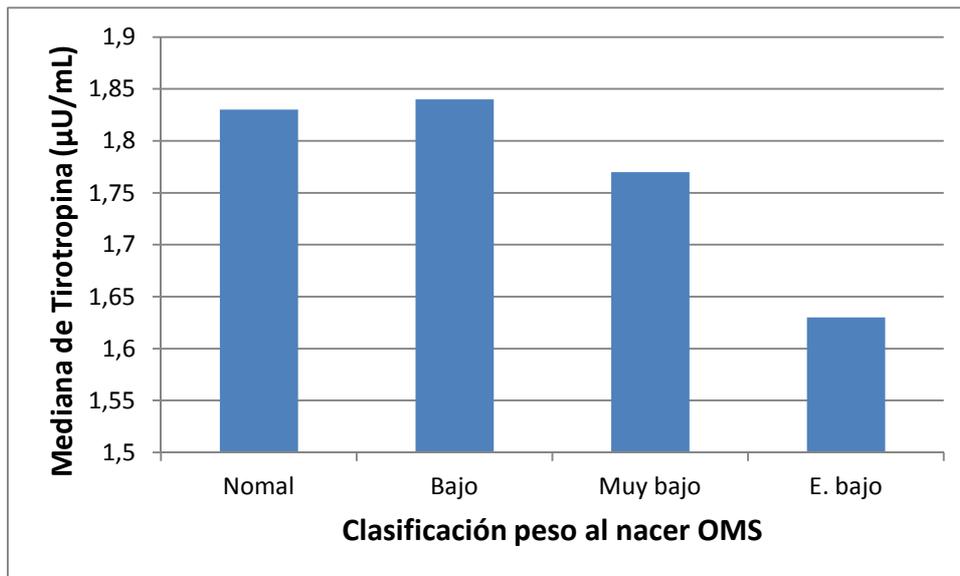


Figura 27. Representación de las medianas de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de peso al nacimiento de los RNP.

Observándose que las diferencias entre medianas son significativas entre casi todos los grupos:

Tabla 8. Diferencias entre las medianas de la TSH ($\mu\text{U/ml}$) entre los niños pretérmino distribuidos en grupos de peso al nacimiento.

Diferencia medianas (IC 95%)	Muy bajo peso	Bajo peso	Normopeso
Extremadamente bajo peso	-0,19 (-0,40 – -0,00)*	-0,34 (-0,50 – -0,18)*	-0,35 (-0,52 – -0,19)*
Muy bajo peso		-0,13 (-0,24 – -0,01)*	-0,14 (-0,26 – -0,01)*
Bajo peso			No significativo (p=0,66)

* Diferencias significativas ($p < 0,01$)

Debido a que el peso al nacer se relaciona con la prematuridad, habrá que analizar posteriormente mediante regresión lineal múltiple si estas diferencias significativas se deben a la influencia del peso al nacer, a la prematuridad o a ambas variables.

Observando los resultados y con el apoyo bibliográfico, tiene sentido categorizar también el peso al nacer en función de la inmadurez del sistema HHT. Se representan

los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 9. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de madurez del sistema HHT, en los niños pretérmino distribuidos por peso superior o inferior a 1500g.

Grupo	N	Media (SD)	IC 95% Media	Mediana (IQR)	IC 95% Mediana
Normal (≥ 1500 g)	5.755	1,84 (1,53)	1,80-1,87	1,44 (1,55)	1,41-1,48
Bajo (<1500 g)	618	1,73 (1,78)	1,59-1,87	1,32 (1,83)	1,15-1,48

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente, observándose que la asimetría positiva es mayor en el grupo normal que en el bajo:

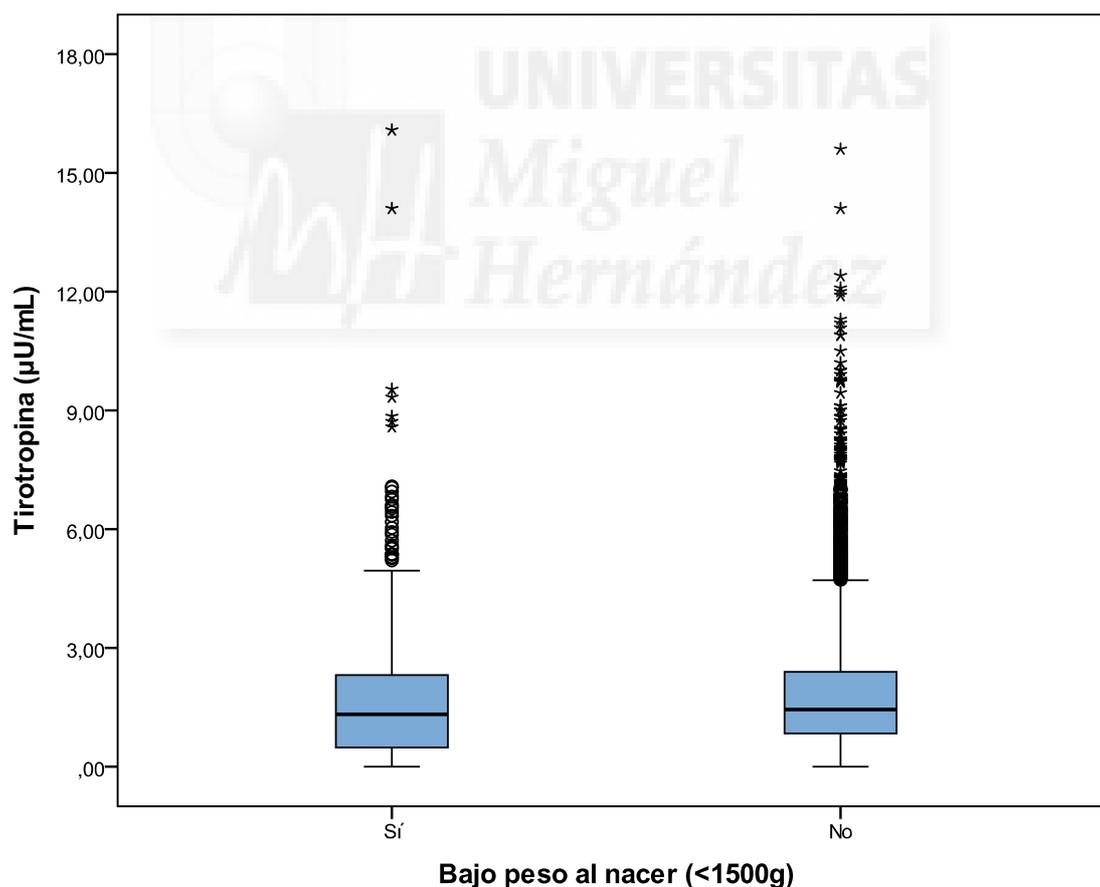


Figura 28. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de madurez del sistema HHT, en los RNP distribuidos por peso superior o inferior a 1500g.

Analizándose la diferencia entre medias con el test no paramétrico de U Mann-Whitney, se observa que existen diferencias significativas $p < 0,01$.

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

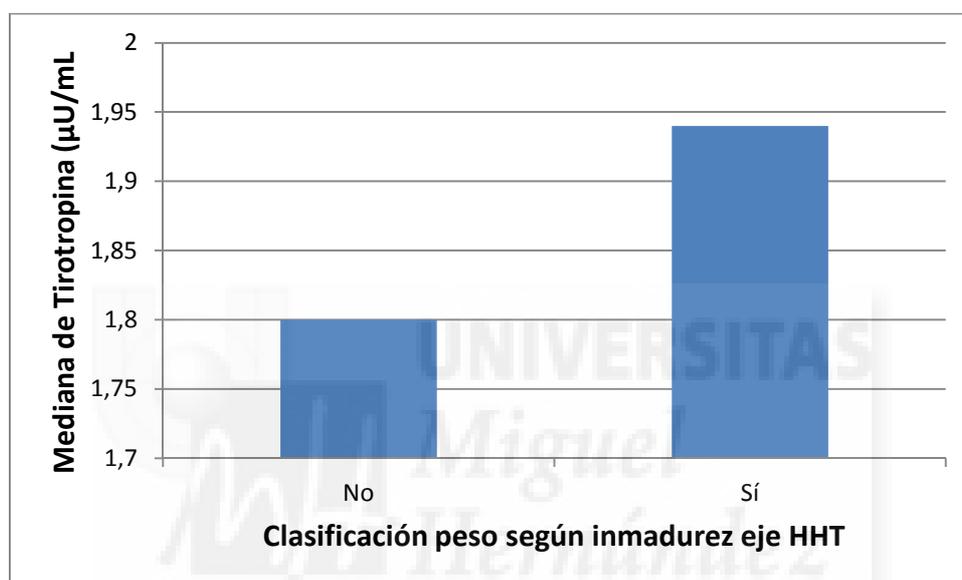


Figura 29. Representación de las medianas de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de madurez del sistema HHT, en los niños pretérmino distribuidos por peso superior o inferior a 1500g.

Observándose que la diferencia de las medianas es de $-0,20 \mu\text{U/ml}$ con un IC95% ($-0,29 - -0,10 \mu\text{U/ml}$), es decir, la concentración de TSH de los bajos es de $-0,20 \mu\text{U/ml}$ inferior a la de los recién nacidos con madurez HHT.

5.3.3. Variación de TSH según los días de vida

Analizando la relación entre la concentración de TSH con los días de vida como variable continua mediante regresión lineal, se observa que existen diferencias significativas ($p < 0,01$) con una R de 0,11. El coeficiente estandarizado de días de vida

en la extracción es de $-0,05 \mu\text{U/ml}$ con un IC 95% ($-0,06 - -0,04 \mu\text{U/ml}$), es decir, por cada día de vida se disminuye la concentración de TSH una media de $-0,05 \mu\text{U/ml}$. Sin embargo, el análisis mediante regresión no es adecuado por la gran asimetría en la distribución, como se verá a continuación, con un pico máximo de concentración el primer día.

Se categoriza la variable días de vida en función de las recomendaciones del programa de Cribado de la Comunidad Valenciana relativas al momento de extracción de la muestra para Hipotiroidismo Congénito. Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 10. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de días de vida a la extracción de la muestra de sangre en los niños pretérmino.

Grupo	N	Media (SD)	IC 95% Media	Mediana (IQR)	IC 95% Mediana
Temprana (día de nacimiento-1^{er} día)	241	2,90 (1,87)	2,67-3,13	2,60 (1,90)	2,29-2,88
Adecuado (2^o-7^o días)	5872	1,78 (1,51)	1,74-1,81	1,41 (1,52)	1,37-1,44
Tarde (> 7^o día)	386	1,93 (1,76)	1,75-2,11	1,51 (1,75)	1,34-1,68

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente:

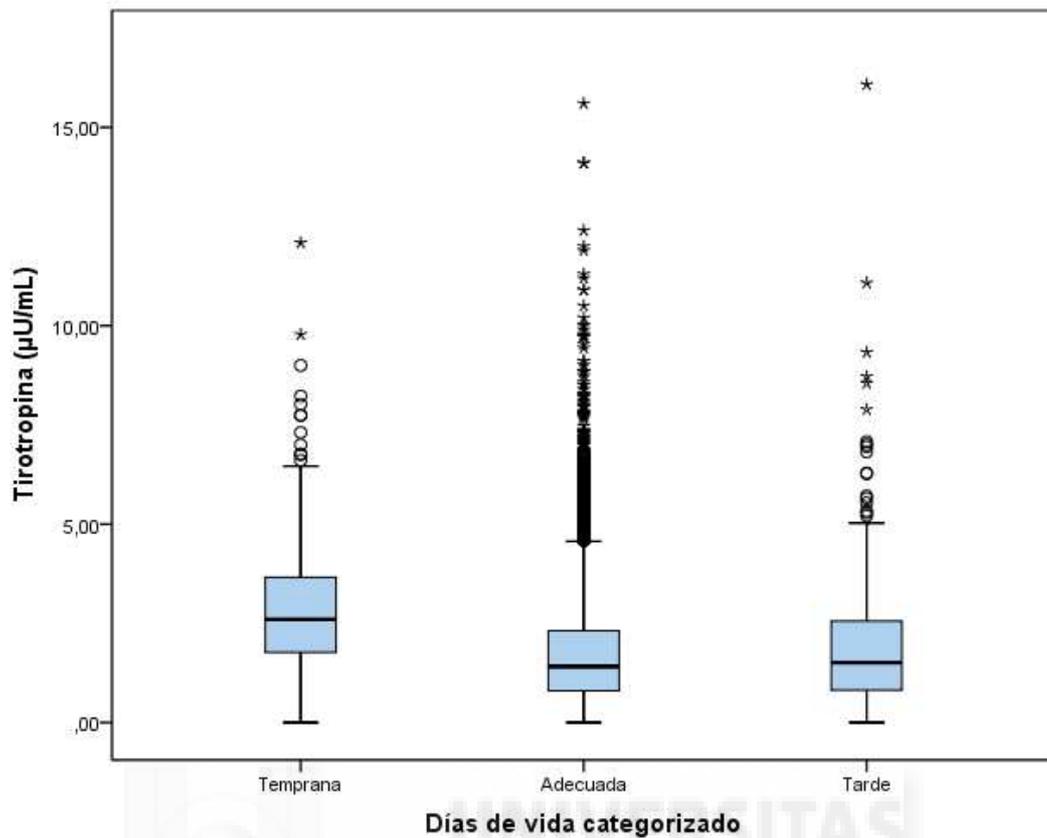


Figura 30. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U}/\text{ml}$) según grupo de edad desde el nacimiento hasta la toma de la muestra de sangre en los niños pretérmino.

Gráficamente se observa que hay mayor dispersión (mayor nº de valores alejados), en el grupo de adecuado que en el de temprano y que en el de tarde, debido a la mayor n de la muestra del grupo adecuado. En caso de tener similar n todos los grupos, la asimetría sería similar, ya que el porcentaje de valores que aparecen como alejados en el diagrama de cajas es similar en todos los grupos.

Se observa que existen diferencias significativas $p < 0,01$ analizándose la diferencia entre medias con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

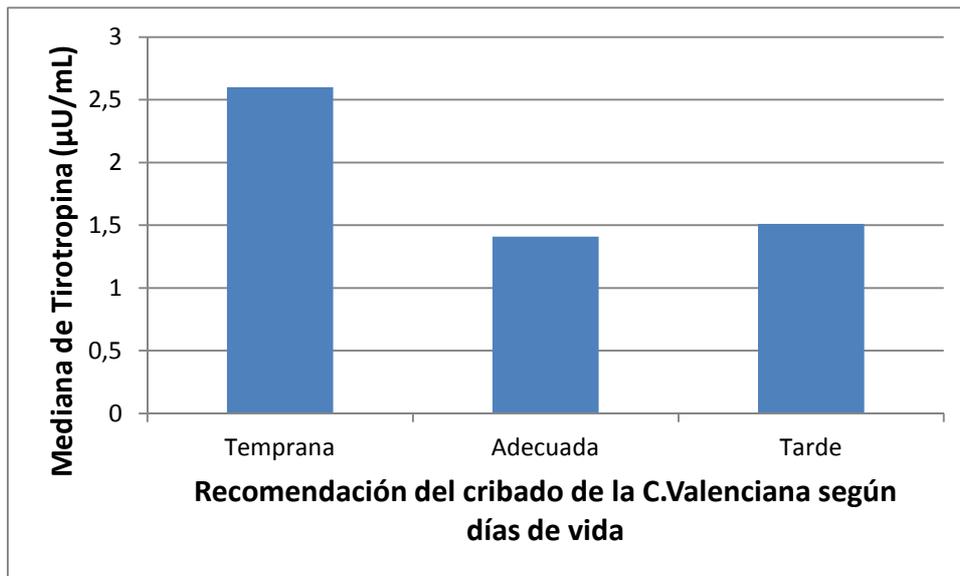


Figura 31. Representación de las medianas de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según grupo de días a la toma de muestras en los niños pretérmino analizados.

Observándose que las diferencias entre medianas son:

- Entre adecuada y temprana es de $-1,06 \mu\text{U/ml}$ ($-1,23 - -0,88 \mu\text{U/ml}$), siendo dicha diferencia significativa ($p < 0,01$)
- Entre adecuada y tarde la diferencia de medianas no es significativa $p = 0,19$.

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en los distintos grupos de prematuros según las variables que indican inmadurez del recién nacido (grado de prematuridad y peso al nacer), en función de los días de vida que tenían el día de la extracción, para observar su evolución en el tiempo después del nacimiento.

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en los distintos grupos de prematuros según su grado de prematuridad:

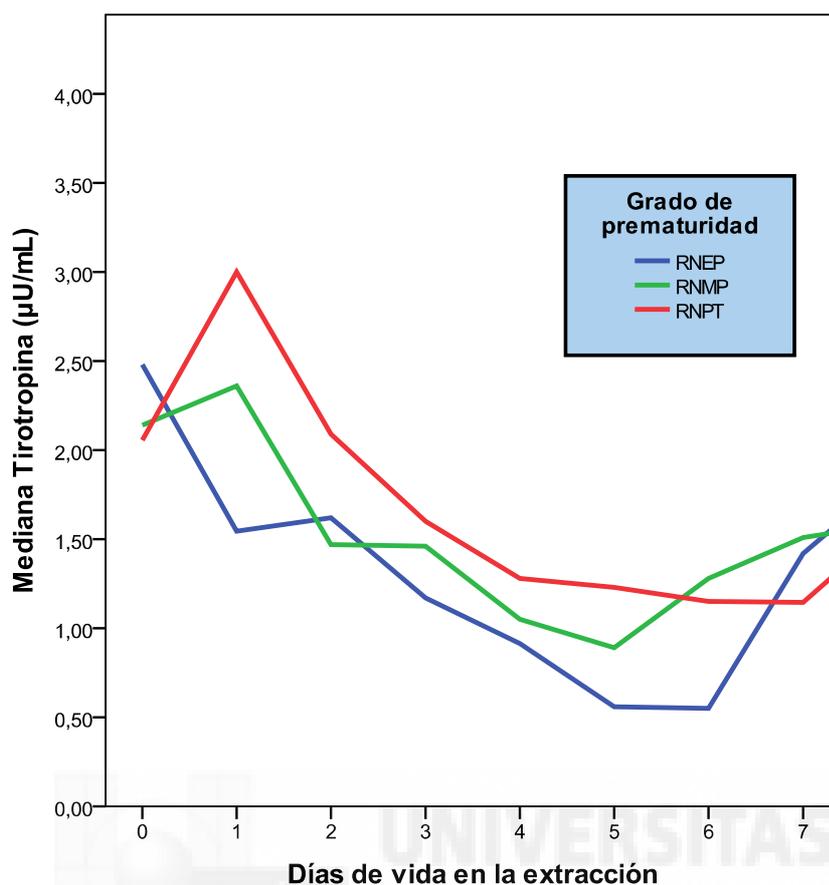


Figura 32. Evolución de la TSH con los días de vida en los distintos grupos de RNP: RNEP, RNMP y RNPT

En la distribución de TSH según los días de vida entre los distintos grupos de prematuros según su edad gestacional, se observa como los RNPT siguen una distribución similar a la de los RNT de la Figura 23, pero a concentraciones más bajas. En los RNMP el pico máximo del primer día se sigue observando aunque de forma menos pronunciada, mientras que en los RNPT no se produce, a pesar de que las concentraciones de TSH en el periodo 0-1 son más altas que en el resto de su distribución.

También se observa como los RNPT tienen concentraciones más altas que los RNMP (ambos siguen distribuciones casi paralelas) y que los RNEP, y los RNMP a su vez superiores a los RNEP.

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en RNP según bajo peso al nacer:

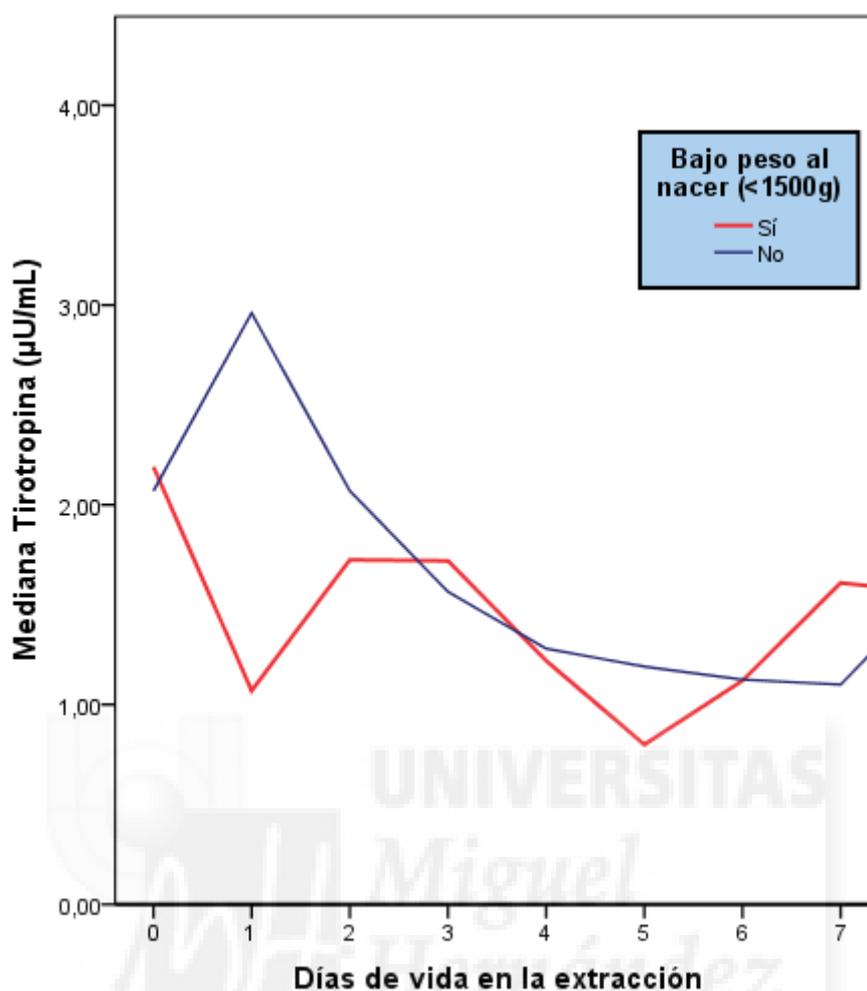


Figura 33. Evolución de la TSH con los días de vida según grupo de madurez del sistema HHT, en los niños pretérmino distribuidos por peso superior o inferior a 1500g.

Se observa que la distribución de las medianas de la concentración de TSH en función de los días de vida según grupo de madurez del sistema HHT es muy diferente. Los que tienen peso al nacer >1500 g y por tanto maduro el sistema HHT, presentan un patrón similar al anteriormente observado en los RNT, aunque a menores concentraciones, con un pico de concentración característico en el primer día de vida. Sin embargo, los de bajo peso al nacer <1500 g no presentan el pico característico en el primer día de vida.

Para observar si la ausencia de pico se debe a edad gestacional, al bajo peso al nacer o a la influencia de ambas variables se realiza el mismo gráfico, pero categorizando a los RNP en función de su grado de prematuridad y peso al nacer.

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en RNEP según bajo peso al nacer:

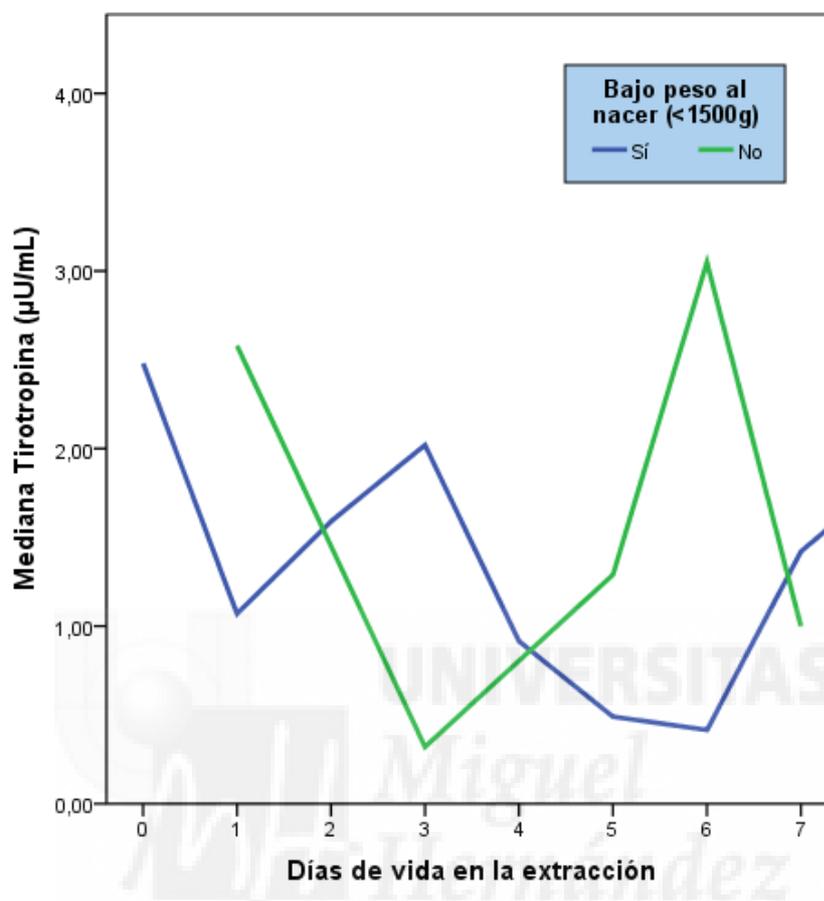


Figura 33. Evolución de la TSH con los días de vida en los RNEP según bajo peso al nacer

Se observa en los RNEP como ni en los de bajo peso al nacer (n=149), ni en los que no tienen bajo peso al nacer (n=7), se produce un pico máximo de concentración de TSH en el primer día de vida. Estos resultados tienen la limitación de que el tamaño muestral del grupo que no tienen bajo peso al nacer es muy bajo (n=7), pudiendo estar justificada la ausencia de pico por el bajo tamaño muestral

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en RNMP según bajo peso al nacer:

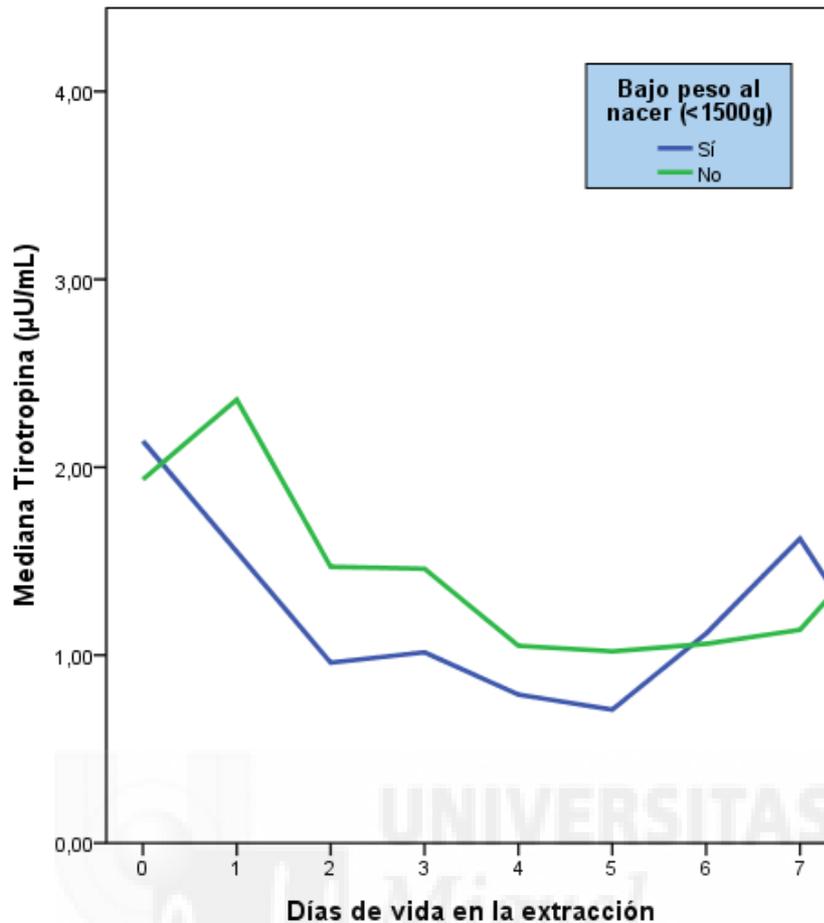


Figura 34. Evolución de la TSH con los días de vida en los RNMP según bajo peso al nacer

Se observa en los RNMP como en los de bajo peso al nacer (n=330) no se produce el pico máximo de TSH en el primer día, pero sí que se produce en en los que no tienen bajo peso al nacer (n=263).

Se representan gráficamente las medianas de la concentración de TSH en RNPT según bajo peso al nacer:

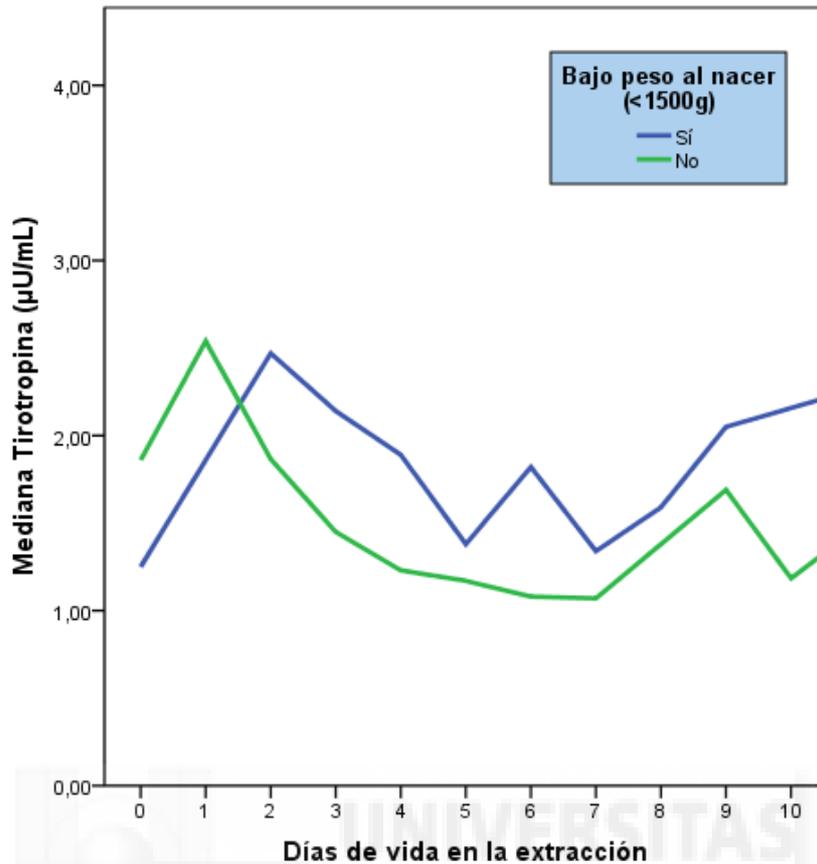


Figura 35. Evolución de la TSH con los días de vida en los RNPT según bajo peso al nacer

Se observa en los RNPT como en los que no tienen bajo peso al nacer (n=5.490) se produce el pico máximo de TSH en el primer día, pero en los de bajo peso al nacer (n=141) ese pico de máxima concentración de TSH se retrasa y se produce el segundo día.

Este hecho es debido a que no se obtuvo ningún dato de RNPT de bajo peso con una muestra extraída con un día de vida, pero sí con dos días de vida. Es de esperar que en el caso de haberse recogido, el pico máximo de TSH fuera en el primer día.

5.3.4. Variación de TSH según el sexo

Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la

media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 11. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según sexo en los recién nacidos pretérmino estudiados.

Grupo	N	Media (SD)	IC 95% Media	Mediana (IQR)	IC 95% Mediana
Masculino	3.505	1,85 (1,63)	1,80-1,90	1,43 (1,63)	1,38-1,48
Femenino	3.000	1,81 (1,48)	1,75-1,86	1,46 (1,52)	1,40-1,52

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente:

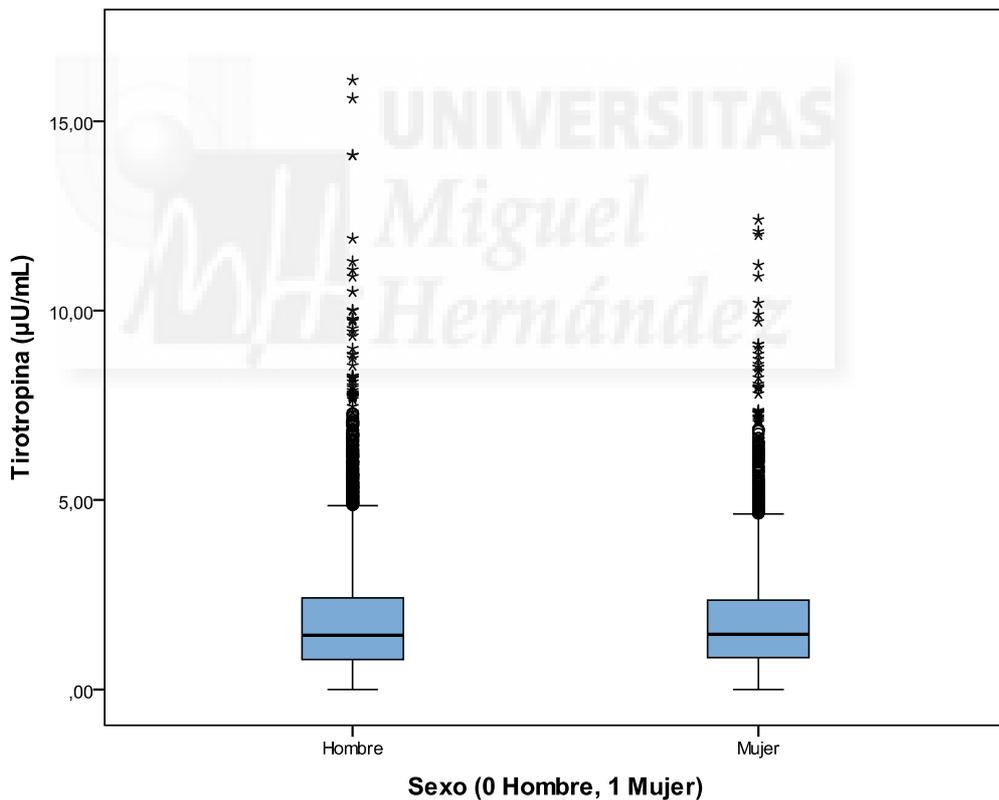


Figura 36. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según sexo.

No se observan diferencias significativas ($p=0,69$) entre los valores de TSH de sexo masculino y femenino, mediante el test no paramétrico U Mann-Whitney.

5.3.5. Variación de TSH según ser gemelos o no

Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 12. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los niños pretérmino con parto gemelar y único.

Grupo	N	Media (SD)	IC 95% Media	Mediana (IQR)	IC 95% Mediana
No gemelos	5.009	1,85 (1,58)	1,81-1,90	1,46 (1,61)	1,42-1,51
Gemelos	1.504	1,75 (1,50)	1,64-1,82	1,39 (1,47)	1,32-1,45

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente:

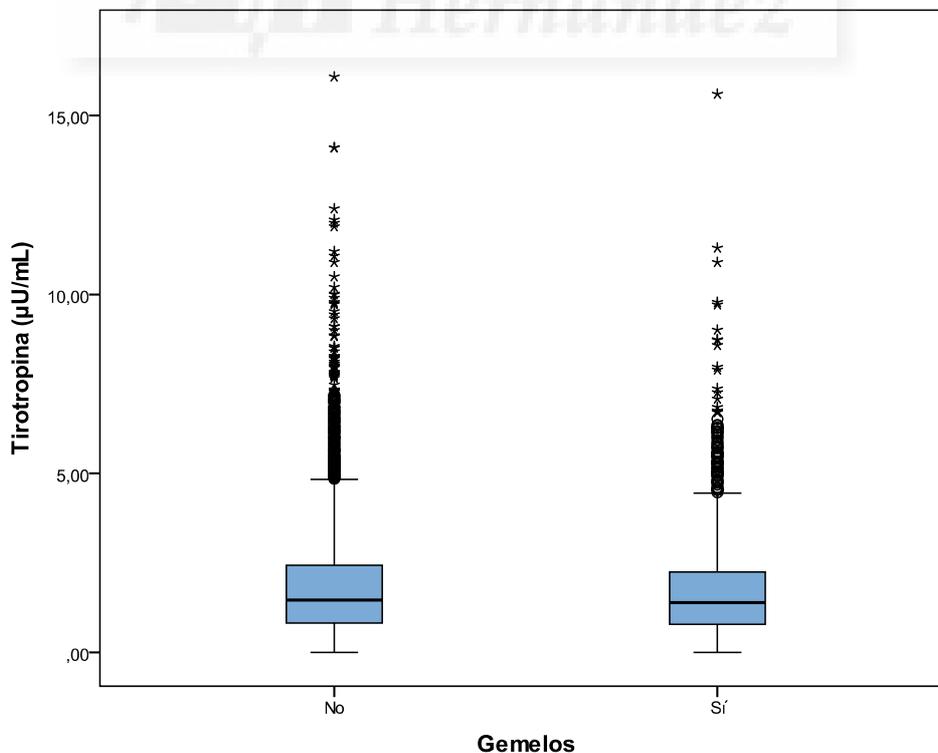


Figura 37. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) según si es gemelo o no.

Se observan diferencias significativas ($p=0,02$) entre los valores de TSH de los gemelos con respecto a los no gemelos, mediante el test no paramétrico U Mann-Whitney.

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

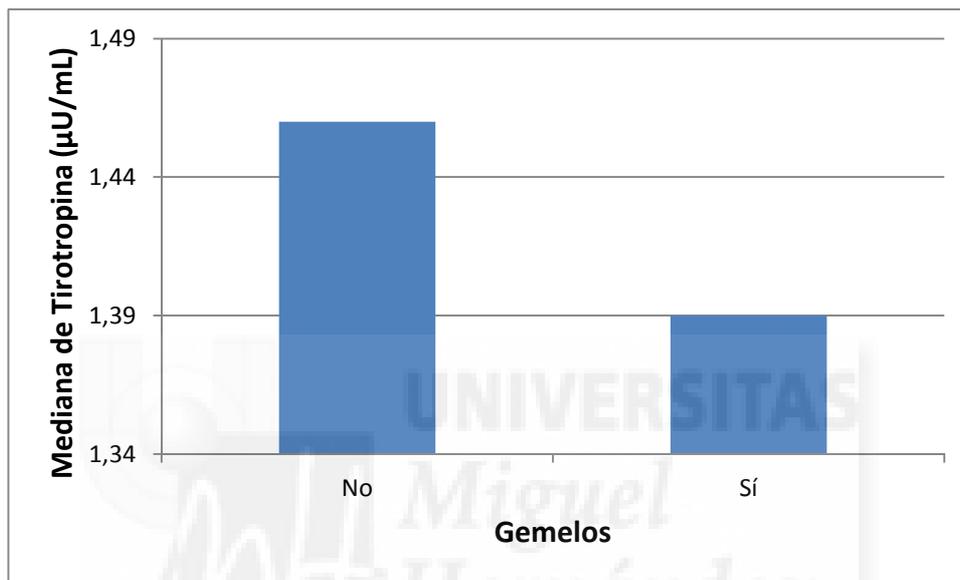


Figura 38. Representación de los valores de las medianas en los RNP según parto gemelar o no.

Las diferencias de las medianas entre no gemelos y gemelos es de $0,07 \mu\text{U/ml}$ ($0,01-0,14 \mu\text{U/ml}$), es decir, la concentración de TSH de los no gemelos es de $0,07 \mu\text{U/ml}$ más alta que la de los normales.

5.3.6. Variación de TSH según edad de la madre

No se observan diferencias significativas ($p=0,581$) mediante regresión lineal de las concentraciones de TSH en función de la edad de la madre.

Sin embargo en la representación de las medianas de las concentraciones de TSH en función de la edad de la madre, se observa un aumento de la concentración de TSH en las edades menores a 15 años y a mayores de 46 años.

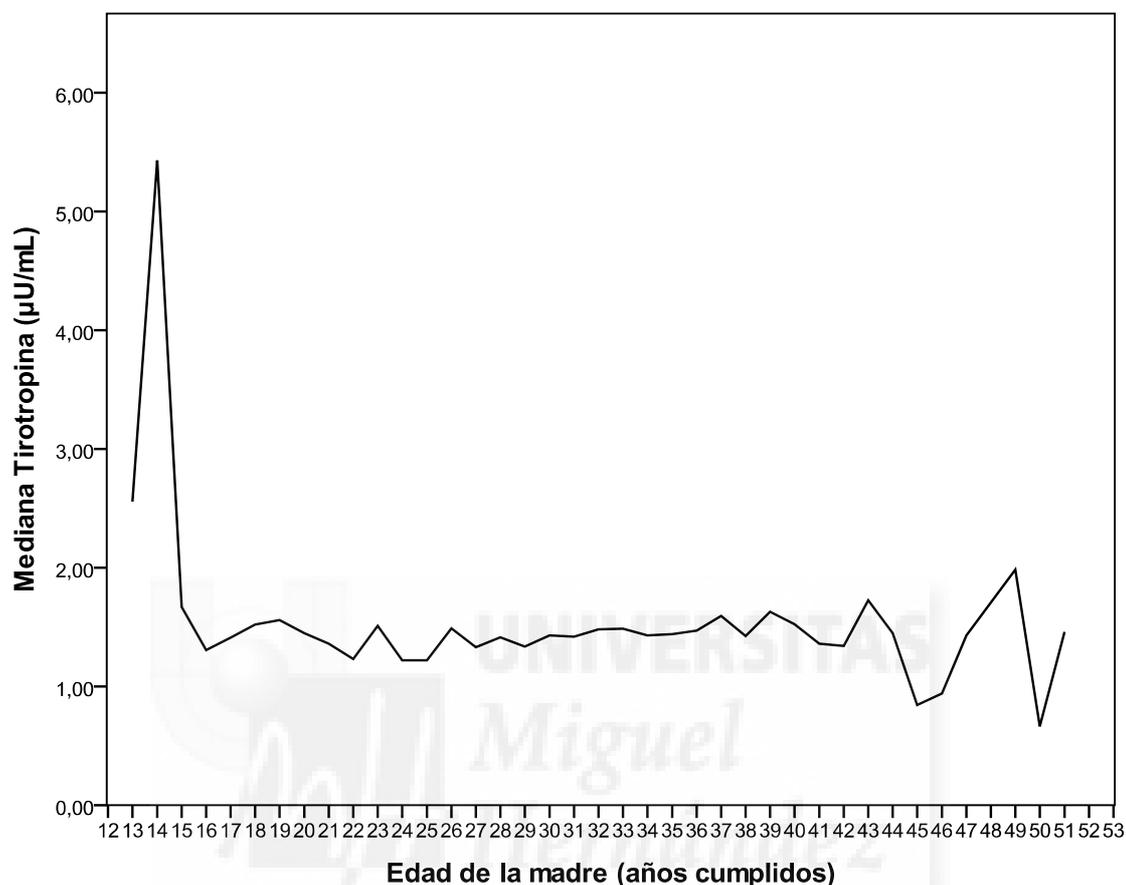


Figura 39. Variación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los niños pretérmino según edad de la madre.

La dispersión gráfica de los valores de los extremos (edad de la madre < 15 años y edad de la madre > de 46 años) se debe a que existen pocos sujetos en esas edades (n de 8 y 16 respectivamente)

5.3.7. Variación de TSH según mes frío o no

Se representan los valores de las medias y medianas de cada grupo para conocer la tendencia central de los datos, acompañadas de la desviación estándar e IC95% de la media e intervalo intercuartílico e IC95% de la mediana respectivamente, para conocer el grado de dispersión.

Tabla 13. Valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los niños pretérmino según el mes de nacimiento sea frío o no.

Grupo	N	Media (SD)	IC95% Media	Mediana (IQR)	IC95% Mediana
No	3.894	1,80 (1,53)	1,76-1,85	1,40 (1,58)	(1,36-1,46)
Sí	1.978	1,94 (1,62)	1,86-2,01	1,58 (1,62)	(1,52-1,66)

Se representa el diagrama de cajas para observar estos datos gráficamente:

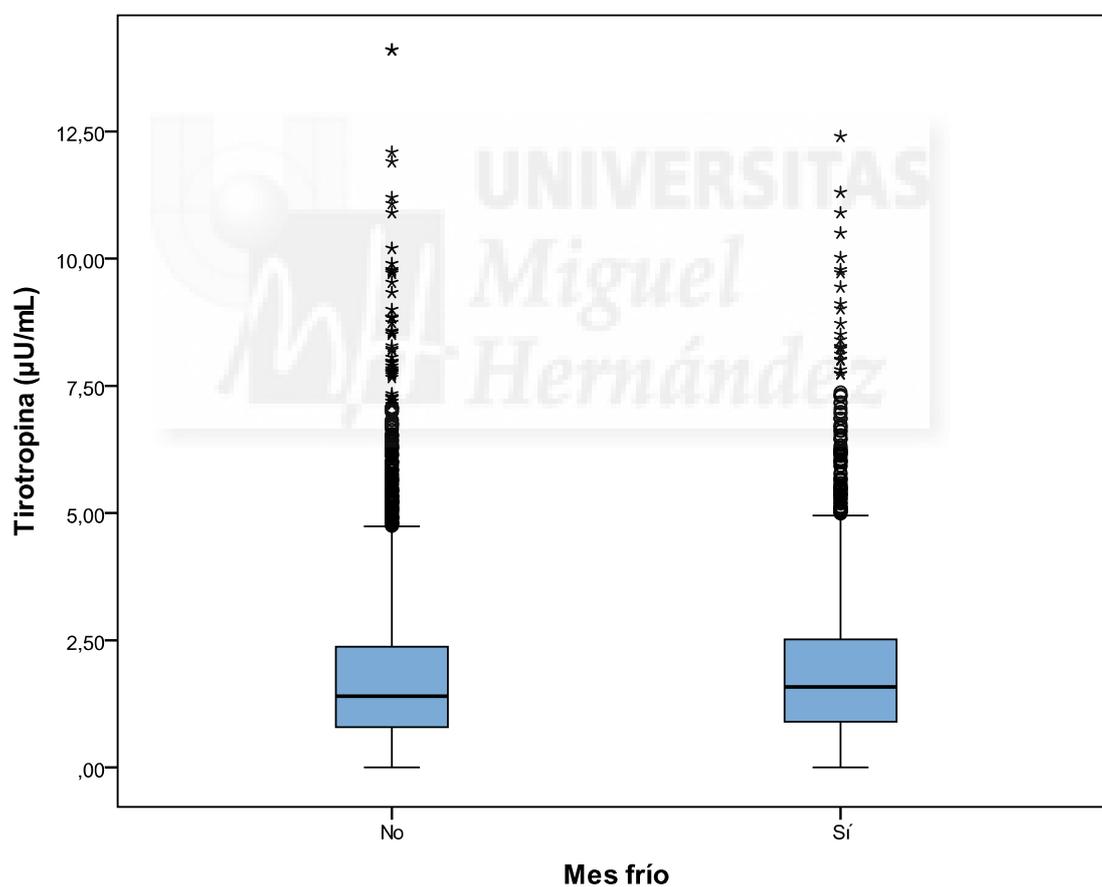


Figura 40. Representación de los valores de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los niños pretérmino según su nacimiento en meses fríos (t media $< 14^{\circ}\text{C}$) y meses cálidos (t media $\geq 14^{\circ}\text{C}$).

Se observan diferencias significativas ($p=0,02$) entre los valores de TSH según la temperatura fría o no del mes, mediante el test no paramétrico U Mann-Whitney.

El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman. Se representan las medianas de cada grupo gráficamente:

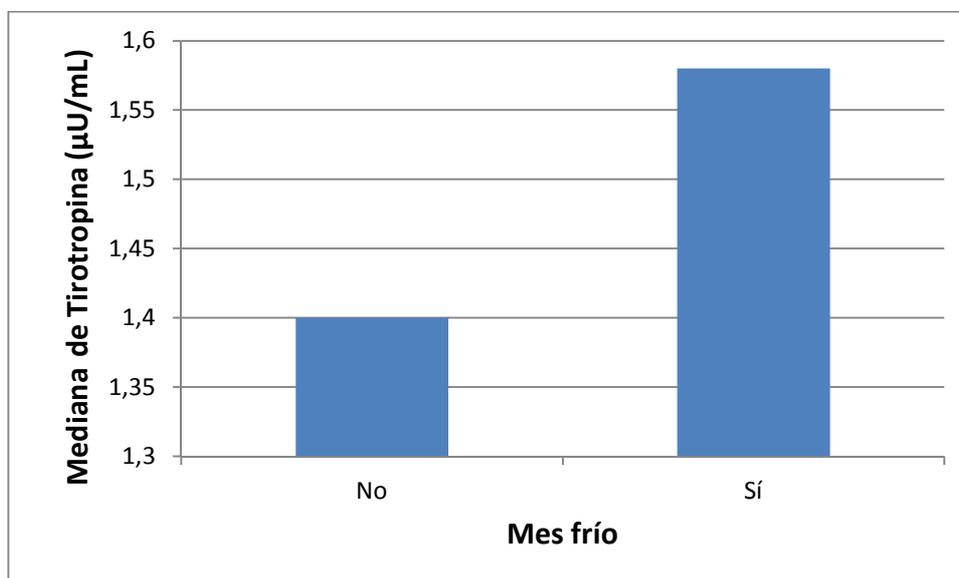


Figura 41. Representación de las medianas de TSH ($\mu\text{U/ml}$) en los niños pretérmino según su nacimiento en meses fríos ($t \text{ media} < 14^\circ\text{C}$) y meses cálidos ($t \text{ media} \geq 14^\circ\text{C}$).

Las diferencias de las medianas entre mes frío y mes sin frío es de $0,11 \mu\text{U/ml}$ ($0,05\text{-}0,18 \mu\text{U/ml}$), es decir, la concentración de TSH de los meses fríos es de $0,11 \mu\text{U/ml}$ más alta que la de los meses sin frío.

5.4. Análisis multivariable de TSH

Se realiza el análisis multivariable de TSH mediante regresión lineal múltiple con las variables que anteriormente se han analizado de forma individual. El objetivo es determinar el efecto individual de cada variable sobre la concentración de TSH independientemente del efecto de las demás variables que se ajustan en el mismo modelo.

Se realiza una estrategia de selección de las variables a introducir en el modelo por pasos guiadas por el investigador, consistentes en una inclusión secuencial de las

variables con una $p < 0,05$ y una exclusión secuencial de las variables con una $p > 0,10$, buscándose el modelo más explicativo y parsimonioso.

Para introducir la variable días de vida en el modelo de regresión se recategorizó la variable en: muestras tempranas (0-1^{er} día) y muestras no tempranas (≥ 2 días). El motivo de la recategorización fue reducir la dispersión del modelo, debido a que no existen diferencias significativas entre una muestra adecuada y tarde,

Las variables finalmente incluidas en el modelo son: edad gestacional (semanas), bajo peso al nacer (Sí/No) tomando como referencia la categoría No, mes frío (Sí/No) tomando como referencia la categoría No y días de vida en la extracción (categorizado en temprana o no temprana), tomando como referencia la categoría no temprana.

Las variables no significativas en el análisis de regresión lineal multivariable fueron son: edad de la madre ($p=0,98$), sexo ($p=0,16$) tomando como referencia la categoría masculina y gemelos ($p=0,23$) tomando como referencia la categoría no ser gemelo.

Se representa el coeficiente de la recta de regresión (B) de cada variable, con su intervalo de confianza a 95% y su grado de significación.

Tabla 16. Coeficiente de la recta de regresión (B) e intervalo de confianza al 95% de las variables influyentes sobre los valores de TSH en niños pretérmino.

Variable	B	IC95 de B	P
Constante	1,20	0,49 – 1,90	<0,01
Edad gestacional (en semanas)	0,06	0,04 – 0,09	<0,01
Bajo peso al nacer (<1500 g)	-0,28	-0,47 – -0,10	<0,01
Mes frío	0,10	0,02 – 0,20	0,02
Días de vida	-1,03	-1,24 – -0,82	<0,01

Categorías de referencia: categoría No en la variable bajo peso al nacer (< 1500g), categoría No en la variable mes frío, categoría no temprana en la variable días de vida.

El coeficiente de determinación (R^2) del modelo es de 0,154, lo que significa que globalmente las variables introducidas en el modelo explicarían un 15,4 % de la variabilidad de la concentración de TSH.

Los resultados significativos del análisis de regresión multivariable indican que:

-La TSH aumenta de media 0,06 $\mu\text{U/ml}$ con un IC 95% (0,04 – 0,09 $\mu\text{U/ml}$) por cada semana gestacional cumplida hasta las 37 semanas.

-Los RNP de bajo peso al nacer (< 1500 g) poseen una TSH de 0,28 $\mu\text{U/ml}$ menor que los que no tienen bajo peso al nacer, con un IC 95% (-0,47 – -0,10 $\mu\text{U/ml}$).

-Los RNP nacidos en meses fríos poseen una TSH de 0,10 $\mu\text{U/ml}$ mayor que los que no nacieron en un mes frío, con un IC 95% (0,02 – 0,20 $\mu\text{U/ml}$).

-Los RNP cuyas muestras fueron extraídas adecuadamente (desde el 2º día de vida en adelante) poseen una TSH de 1,03 $\mu\text{U/ml}$ menor que aquellos en los que fueron extraídas inadecuadamente (días de vida inferiores a 2), con un IC 95% (-1,24 – -0,82 $\mu\text{U/ml}$).

5.5. Evaluación de la maduración del eje tiroideo: evolución de TSH intrasujeto

5.5.1. Diagnosticados de HC en la evolución

Los RNP a los que se les realizó el cribado neonatal de HC durante el periodo 2008-2012 y que fueron considerados como sanos tras la medición de TSH fueron $n=6520$. De éstos, sólo se recibió una segunda muestra en 615 niños (9,43% de la inicial) con el objetivo de volver a repetir el cribado tras su maduración.

De los 615 que se les repitió el cribado, fueron diagnosticados 4 de ellos (0,65%) de HC tras el análisis de una 2ª o 3ª muestra.

Se representan los resultados de TSH del primer cribado y de la repetición del mismo acompañado por la edad gestacional corregida en cada muestra:

Tabla 14. Casos de HC en RNP que se escaparon del primer cribado

Caso	Edad gestacional (1ª muestra)	TSH (μ U/ml)	Edad gestacional (2ª muestra)	TSH 2 (μ U/ml)	Edad gestacional (3ª muestra)	TSH 3 (μ U/ml)
1	30,00	5,68	32,29	8,45	35,14	9,50
2	33,29	8,11	35,29	12,00	37,71	23,40
3	35,00	8,85	36,29	9,35	38,57	9,30
4	35,29	4,86	37,71	7,88	41,43	9,21

5.5.2. Comparación de TSH intrasujeto en la evolución

Al analizar las medidas intrasujeto y compararse cada sujeto consigo mismo se elimina la interferencia de las demás variables que pueden influir en el estudio.

Se representan los cambios de grupo según el grado de prematuridad corregido con el objetivo de valorar la influencia de la maduración del prematuro en la concentración de TSH.

De los 615 de los que se recibió muestra para repetir el cribado, 487 habían experimentado un cambio de grupo según el grado de prematuridad corregido.

Se emplea el test no paramétrico T de Wilcoxon para obtener el grado de significación. El grado de la diferencia entre ambos grupos se calcula con la diferencia de medianas mediante el procedimiento de Hodges-Lehman.

Se representa el cambio de grupo según el grado de prematuridad, con su n, la p del test no paramétrico T d Wilcoxon, la diferencia de las medianas y el IC95% de las diferencias:

Tabla 15. Diferencias de TSH intrasujeto según cambio de grupo gestacional según grado de prematuridad

Cambio de grupo de grado de prematuridad corregido	n	p	Diferencia de la mediana	IC95% de la diferencia de la mediana
De RNEP a RNPM	24	0,01	1,05	-0,03 – 1,51
De RNEP a RNPT	14	0,22	0,59	-0,16 – 0,98
De RNEP a RNT	8	0,78	0,23	-2,83 – 1,97
De RNPM a RNPT	91	<0,01	0,43	-0,08 – 0,67
De RNPM a RNT	53	0,34	0,07	-0,31 – 0,97
De RNPT a RNT	297	<0,01	0,25	0,11 – 0,38

Se observa como a medida que el RNP, va creciendo, madurando y pasando de grupo según el grado de prematuridad corregido, la TSH va aumentando significativamente., observándose una mayor TSH en los grupos con menor grado de prematuridad.

En algunos cambios de grupo no se observan diferencias significativas debido a que el tamaño de la muestra no es lo suficientemente grande para hallarlas, es decir, no se tiene la suficiente potencia estadística. Sin embargo si observamos los IC, aunque incluyan el valor 0, se observa cómo el IC inferior está mucho más cercano al 0 que el superior. Por ello, en estos casos cabría esperar encontrar diferencias significativas en caso de aumentar el tamaño de la muestra.

5.6. Intervalo de referencia de TSH en prematuros

5.6.1 Total de prematuros

Se representan las características descriptivas de las variables influyentes en la concentración de TSH del total de los RNP (n=6.161) empleados para el cálculo de los intervalos de referencia:

Tabla 17. Distribución de los recién nacidos pretérmino según grupos de peso al nacer, mes frío y días adecuados o no a la extracción.

Variable		Frecuencia
Bajo peso al nacer	No	620 (9,7%)
	Sí	5760 (90,3%)
Mes frío	No	3899 (66,3%)
	Sí	1980 (33,7%)
Días de vida adecuados	No	241 (3,7%)
	Sí	6265 (96,3%)

Se representa el intervalo de referencia para el total de RNP, acompañados del intervalo de confianza del 90% de los límites superior e inferior del intervalo.

Tabla 18. Intervalo de referencia de TSH en RNP

N	IR (p2,5- p97,5)	IC90% I. Superior	IC90% I. Inferior
6.161	0,01-3,72	0,01-0,01	3,67-3,78

5.6.2. Extremadamente prematuros:

Se representan las características descriptivas de las variables influyentes en la concentración de TSH en los RNEP (n=159) empleados para el cálculo de los intervalos de referencia:

Tabla 19. Distribución de los recién nacidos extremadamente prematuros según grupos de peso al nacer, mes frío y días adecuados o no a la extracción.

Variable		Frecuencia
Bajo peso al nacer	No	7 (4,5%)
	Sí	149 (95,5%)
Mes frío	No	109 (76,2%)
	Sí	34 (23,8%)

Días de vida adecuados	No	5 (3,2%)
	Sí	153 (96,8%)

Se representa el intervalo de referencia para el total de RNEP, acompañados del intervalo de confianza del 90% de los límites superior e inferior del intervalo.

Tabla 20. Intervalo de referencia de TSH en RNEP

N	IR (p2,5- p97,5)	IC90% I. Superior	IC90% I. Inferior
159	0,01-3,81	0,01-0,01	3,19-4,00

No se realizan subclases para el cálculo de los intervalos de referencia, en los RNEP, porque la n=159, no es lo suficientemente grande.

5.6.3 Muy prematuros:

Se representan las características descriptivas de las variables influyentes en la concentración de TSH en los RNMP (n=609) empleados para el cálculo de los intervalos de referencia:

Tabla 21. Distribución de los RNMP según grupos de peso al nacer, mes frío y días adecuados o no a la extracción.

Variable		Frecuencia
Bajo peso al nacer	No	263 (44,4%)
	Sí	330 (55,6%)
Mes frío	No	368 (69,2%)
	Sí	164 (30,8%)
Días de vida adecuados	No	13 (2,1%)
	Sí	596 (97,9%)

Se representa el intervalo de referencia para el total de RNMP, acompañados del intervalo de confianza del 90% de los límites superior e inferior del intervalo.

Tabla 22. Intervalo de referencia de TSH en RNMP

N	IR (p2,5- p97,5)	IC 90 I.Superior	IC 90 I. Inferior
609	0,01-3,84	0,01-0,01	3,67-4,16

Se realizan los intervalos de referencia por subclases de todos los RNMP con muestras extraídas los días de vida adecuados (n=596). No se realizan intervalos subclases de los RNMP con días de muestras extraídas los días de vida no adecuados por ser la n=13 muy pequeña.

Se representan los intervalos de referencia para las subclases de MP con muestras extraídas los días de vida adecuados (n=596), acompañados del intervalo de confianza del 90% de los límites superior e inferior del intervalo.

Tabla 23. Intervalos de referencia de TSH en RNMP según las variables influyentes en la TSH

	Bajo peso (<1500 g)				Sin bajo peso (≥1500g)			
	N	IR	IC90% I	IC90% S	N	IR	IC90% I	IC90% S
Mes no frío	195	0,01-3,83	0,01-0,01	3,38-4,54	164	0,01-3,92	0,01-0,09	3,48-4,29
Mes frío	88	0,01-3,83	0,01-0,01	3,39-4,06	75	0,03-3,18	0,03-0,12	2,86-3,32

5.6.4 Prematuros tardíos:

Se representan las características descriptivas de las variables influyentes en la concentración de TSH en los RNPT (n=5.752) empleados para el cálculo de los intervalos de referencia:

Tabla 24. Distribución de los RNPT según grupos de peso al nacer, mes frío y días adecuados o no a la extracción.

Variable		Frecuencia
Bajo peso al nacer	No	5490 (97,5%)
	Sí	141 (2,5%)
Mes frío	No	3422 (65,8%)
	Sí	1782 (34,2%)
Días de vida adecuados	No	223 (3,9%)
	Sí	5520 (96,1%)

Se representa el intervalo de referencia para el total de RNPT, acompañados del intervalo de confianza del 90% de los límites superior e inferior del intervalo.

Tabla 25. Intervalo de referencia de TSH en RNEP

N	IR (p2,5- p97,5)	IC 90 I.Superior	IC 90 I. Inferior
5529	0,02-3,56	0,00-0,04	3,51-3,61

Se representan los intervalos de referencia para las subclases de RNPT con muestras extraídas los días de vida adecuados (n=5520), acompañados del intervalo de confianza del 90% de los límites superior e inferior del intervalo.

Tabla 26. Intervalos de referencia de TSH en RNPT según las variables influyentes en la TSH

	Bajo peso (<1500 g)				Sin bajo peso (<1500g)			
	N	IR	IC90S	IC90I	N	IR	IC90S	IC90I
Mes cálido	45	0,39-	0,25-	3,14-	3137	0,01-	0,01-	3,51-
		3,62	0,63	4,08		3,59	0,05	3,67
Mes frío	85	0,13-	0,05-	3,10-	1626	0,02-	0,00-	3,57-
		3,61	0,31	3,81		3,68	0,07	3,77





6. Discusión



6. DISCUSIÓN

6.1 Análisis de las características de la población

Aunque no era un objetivo del estudio de esta tesis, la tasa de nacimientos prematuros en la provincia de Alicante en el periodo 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012, ha sido de 7,29% (6.532 RNP), muy similar a la tasa de nacimientos prematuros en España en 2010 de 7,45% dada por la OMS (Blencowe, 2012), situando nuestra provincia y nuestro país en una de las regiones en las que se producen pocos partos prematuros (posición nº 40 para España), reflejando así la adecuada asistencia sanitaria general dada durante el embarazo.

A pesar de que los RNP en porcentaje no sea un grupo poblacional grande, si atendemos a números absolutos se observa que 6.532 es una cifra considerable, que junto a las características propias de la función tiroidea de este grupo poblacional, justifican la realización de unos intervalos de referencia propios, que mejoren la valoración de la función tiroidea y la asistencia sanitaria.

Un paso crítico en la realización de los intervalos de referencia es la selección de los individuos que formarán parte de esa población de referencia, debiendo establecerse, como así ha sido, unos criterios de selección adecuados.

También es muy importante el análisis descriptivo de la población de referencia, ya que explicarán en parte los IR obtenidos, permitiendo la comparación con los IR de otras poblaciones e incluso, y si la población y métodos de diagnóstico son similares, permitirá adaptarlos a otras poblaciones tras una validación de los mismos (CLSI, 2008).

En los RNP la media de valores de la edad gestacional es de 34,50 semanas, debido a que, como era de esperar, se ha producido un mayor número de nacimientos en grado de prematuridad menores (88% RNPT) que en mayores (2,4% RNEP).

El porcentaje de los nacimientos de RNP en función de su grado de prematuridad (88,2% RNPT, 9,3% RNMP y 2,4% RNEP) es muy similar a la distribución observada en el resto de los países del mundo (Howson CP, 2012) con una

ligera disminución de los recién nacidos más prematuros debido a una mejor asistencia sanitaria durante el embarazo, en comparación con los países subdesarrollados.

Debido a la misma causa los RNP de bajo peso al nacer están en porcentajes similares a los de los países desarrollados con una adecuada asistencia sanitaria durante el embarazo.

La media de la edad de la madre observada es 31,62 años similar a la observada en el resto de provincias españolas en el periodo 2008-2012 (Instituto Nacional de Estadística, 2012).

Respecto a la distribución de la muestra por sexo, la muestra es homogénea, siendo común el pequeño incremento en porcentaje de niños frente al de niñas como ya ha sido observado en los últimos años en otros estudios (Manero, 2012; Rizo, 2013).

El porcentaje de gemelos, aunque lógicamente menor que los de no gemelos, es llamativo al ser del 23,1% de los RNP. Esto es debido a que más del 60% de los embarazos múltiples (Giuffrè M, 2012) dan lugar a nacimientos prematuros. Otro hecho que favorece ese porcentaje es que el porcentaje es referido a recién nacido gemelo o no, en lugar de a parto gemelar o no, por lo que cuando se da un nacimiento gemelar se cuentan dos recién nacidos.

Respecto la distribución de la muestra por meses de nacimiento la muestra es homogénea, siendo el número de nacimientos prematuros prácticamente constante durante todo el año.

Con respecto a la adecuación de la muestra en función de los días de vida en la extracción, el 90,4% siguió la recomendación del Programa de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la Comunitat Valenciana de enviar la muestra entre el 2º-7º día de vida.

La distribución de TSH de los recién nacidos analizados (tanto en RNP, como en RNT) se caracteriza por una asimetría positiva, es decir, existe una cola en la distribución de TSH hacia concentraciones más altas.

Esta distribución es característica de la TSH observándose dicha asimetría positiva en numerosos grupos poblacionales: recién nacidos (Evans C, 2011), niños (Aldrimer M, 2014), embarazadas (Fan J, 2013) y población general (Burkhardt K,

2014). Ello hace que en el análisis estadístico deban emplearse test no paramétricos, ya que a pesar de tener un tamaño de muestra grande, la gran asimetría de la distribución de TSH provoca sesgos en las comparaciones si se utilizan los test paramétricos.

6.2. Comparación de TSH entre prematuros y nacidos a término

6.2.1 Prevalencia de hipotiroidismo congénito en prematuros y nacidos a término.

La prevalencia de HC durante el periodo 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012 es mayor en RNP (1 enfermo de cada 1.088 nacimientos prematuros) que en RNT (1 enfermo de cada 2.130 nacimientos a término) y que la incidencia global (1 de cada 1.991 recién nacidos).

Estos resultados tienen la limitación de que en 4.028 recién nacidos no se presentaba registrada la edad gestacional. Para el cálculo se supuso que estos 4.028 recién nacidos, se trataban de RNT debido a que en los RNP la atención sanitaria es más exhaustiva, hay mayor atención al rellenar los datos y se repite el cribado de HC pasadas unas semanas desde el nacimiento. Aunque fundamentada, y probablemente cierta, no deja de ser una suposición, por lo que la incidencia de HC en RNP y la incidencia en RNT calculadas deben ser entendidas con esta limitación.

Si en lugar de ello supusiéramos que el error en la falta de registro de esos 4.028 recién nacidos es aleatorio entre los dos grupos, se puede afirmar que la incidencia de HC es mayor en los RNP que en los RNT.

Por tanto no se puede precisar con exactitud la incidencia en cada grupo, aunque sí en la global, además de poder aseverar que la incidencia es mayor en los RNP que en los RNT.

La prevalencia global (incidencia media acumulada en el periodo) de HC de nuestro estudio es de 1:1.991, observada en la población de Alicante, durante el periodo

de 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012. Esta incidencia es ligeramente mayor a la observada en España durante 2012 que resultó de 1:2334 (AECNE, 2012).

En Europa y el resto del mundo la incidencia es muy variable, comprendiéndose entre 1:1000-1:4000 de los recién nacidos vivos (IAEA, 2005). En poblaciones europeas similares a la nuestra se observa una incidencia similar de 1:2200-1:3000 (Loeber JG, 2007).

La prevalencia de HC ha aumentado desde el 2007 debido a que se ha mejorado el diagnóstico con respecto a los años anteriores, debido a la implementación de puntos de corte de reevaluación más adecuados y volviendo a cribar a los RNP entre otras medidas (Mengreli C, 2010; Deladoëy J, 2011; Olivieri A, 2013; Léger J, 2014).

En cuanto a la prevalencia de HC en RNP numerosos estudios indican una mayor incidencia en este grupo población con respecto a los RNP (Rastogi MV, 2010; Vigone MC, 2014), al igual que lo que observamos en nuestro estudio. Sin embargo pocos estudios dan valores de incidencia de HC en este grupo poblacional.

6.2.2. Comparación de concentración de TSH entre prematuros y nacidos a término

La concentración de TSH en los RNP difiere significativamente de la de los RNT, siendo las concentraciones de TSH en los RNP menores que en los RNT.

Estas diferencias están en consonancia con las observadas en otros estudios (Murphy N, 2004; Delbert A, 2008) donde se observan diferencias en las concentraciones de TSH similares.

Las causas de estas menores concentraciones de TSH en los RNP son variadas e incluyen: inmadurez del eje HHT, inmadurez de la glándula del tiroides, aumento de la utilización de la T4 por los tejidos, disminución de la producción hepática de TBG, problemas de nutrición (Petritzko E, 2013), respuesta termogénica menos eficiente, una

menor reserva tiroidea y un metabolismo tiroideo fetal persistente (Delbert A, 2008) entre otras causas.

Por esta diferencia de concentraciones de TSH, si se toma como referencia el mismo límite de decisión de TSH para RNT que para RNP en el cribado de HC, el número de resultados falsos negativos en RNP es desproporcionadamente alto (Kaye CI, 2006), pudiéndose dejar de diagnosticar RNP con HC al escapar del cribado.

Además hay que tener en cuenta que, como hemos observado anteriormente, los RNP tienen una mayor incidencia de de HC que los RNT (Rastogi MV, 2010; Vigone MC, 2014), lo que hace que se deba tener especial atención en el cribado de HC de este grupo poblacional.

La estrategia actual tomada por el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana consiste en la repetición del cribado en los RNP, en consonancia con lo establecido en la mayoría de programas de cribado neonatal (Mandel, 2000; Larson, 2003; Gruñeiro-Papendieck, 2005; Woo HC, 2011; Korzeniewski SJ, 2013), tomando como límites de decisión los mismos que en los RNT.

Sin embargo y aunque esta estrategia se considera hoy en día correcta, para una mejor interpretación del cribado de HC en RNP y correcto abordaje clínico, se deben adecuar los límites de decisión de TSH en RNP (Korada M, 2008), denotando la necesidad de establecer intervalos de referencia propios para los RNP de forma general (Cummings JJ, 2012) o para los subgrupos de RNP según grado de prematuridad y /o según las variables influyentes en la prueba de cribado de forma más específica (Lott JA, 2004).

6.2.3 TSH según días de vida en prematuros y nacidos a término

De acorde a lo descrito en la bibliografía, la evolución de la TSH en los RNT según días de vida se caracteriza por unas concentraciones de TSH más altas en el periodo de 0-1^{er} día, con un pico de concentración en el primer día de vida (Delong GR,

1989; Fisher DA, 2000) para posteriormente ir disminuyendo progresivamente hasta el 6º-7º día de vida.

Se sugiere que la causa de este pico máximo característico en el primer día pueda ser debido al cambio de medio más frío y/o al corte del cordón umbilical (Thorpe-Beeston JG, 1991; DeZegher F, 1994; Fisher DA, 2000) ante el cual el organismo del recién nacido responde mediante una estimulación de la síntesis de TSH.

En el caso de los RNP la evolución es similar, siguiendo una evolución casi paralela pero con concentraciones inferiores a los RNT. El pico máximo de concentración de los RNP también se da en el primer día pero la respuesta se da en menor medida que en los RNT, debido a que la inmadurez del RNP no permite una respuesta frente a los estímulos en la misma medida que en el RNT.

Dado que el grado de inmadurez es diferente en los RNP según su grado de prematuridad, será interesante analizar posteriormente si los grupos de RNP con mayor inmadurez (mayor grado de prematuridad) son capaces de responder con un pico de TSH en el periodo 0-1^{er} día al estímulo del cambio a un medio más frío y/o al corte del cordón umbilical al nacer.

Por producirse esta respuesta de TSH en RNT y RNP en el periodo 0-1^{er} día de vida, la recomendación para la extracción de la muestra con objeto del cribado de HC debe hacerse posterior a ese periodo. El programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana y la CLSI (CLSI, 2009) recomiendan que la extracción debe hacerse en las 48-72 horas posteriores al nacimiento del niño.

En caso de recogerse una muestra antes de las 48 horas, los puntos de corte establecidos para el cribado de HC no son eficientes, no haciéndose un buen uso de los recursos sanitarios al tener que repetirse el cribado, con el consiguiente gasto sanitario.

6.3 Influencia de determinadas variables en la en la concentración de TSH en RNP

6.3.1 Influencia de la edad gestacional en la concentración de TSH en RNP

Categorizando la edad gestacional, según la clasificación propuesta por la OMS de grado de prematuridad, se observa que existen diferencias significativas entre grupos siendo la concentración de TSH menor en los RNEP (mediana de 0,91 μ U/ml), que en los RNMP (1,33 μ U/ml) y que en los RNPT (1,47 μ U/ml), siguiendo además estas concentraciones una tendencia negativa significativa, es decir, al disminuir el grado de prematuridad aumenta la concentración de TSH.

Estas mismas diferencias están en consonancia con los hallados en otros estudios (Van Wassenaer AG, 1997; Cummings JJ, 2012) donde se observan diferencias similares.

Sin embargo pocos estudios estiman la magnitud de la diferencia entre estos grupos poblacionales, que además de permitir conocer entre qué grupos existen mayores diferencias, permite también observar la tendencia negativa ya descrita anteriormente, entre edad gestacional y concentración de TSH.

Así se observan que, como era de esperar, que las mayores diferencias se encuentran entre los grupos más diferentes según su grado de prematuridad, observándose como a medida que aumenta la diferencia de prematuridad entre grupos también aumenta la diferencia de las medianas de TSH.

Las causas de estas diferencias son las mismas que las ya descritas en la comparación entre RNT y RNP y están en consonancia con la mayor inmadurez en los grupos poblacionales con un mayor grado de prematuridad: RNEP > RNMP > RNPT > RNT.

De ahí que las menores concentraciones de TSH sean las del grupo RNEP, seguidas de RNMP, RNPT y RNT, aumentando la TSH gradualmente conforme disminuye el grado de prematuridad.

Entre los factores relacionados a estas diferencias se deben considerar la inmadurez del eje HHT, inmadurez de la glándula del tiroides, aumento de la utilización

de la T4 por los tejidos, disminución de la producción hepática de TBG y problemas de nutrición entre otras causas (Petritzko E, 2013). A mayor grado de inmadurez se observarán menores concentraciones de TSH.

Gráficamente se observa como a mayor grado de prematuridad hay menor asimetría en la distribución de TSH tal y como pasaba en la comparación entre las distribuciones de TSH en los RNP y los RNT. Se observa también que a menor grado de prematuridad la distribución de TSH se asemeja más a la de los RNT.

Mediante el análisis multivariable se observa que la influencia de la edad gestacional sobre la concentración de TSH es de 0,06 $\mu\text{U/ml}$ (0,04-0,09 $\mu\text{U/ml}$), es decir, cada semana gestacional que se cumple hasta la semana gestacional 37, aumenta la concentración de TSH en un múltiplo de 0,06 $\mu\text{U/ml}$ tras controlar por las variables bajo peso al nacer (< 1500g), días de vida en la extracción y mes frío.

6.3.2 Influencia del peso al nacer en la concentración de TSH en RNP

Se analizó la influencia del peso al nacer, categorizándolo de dos formas: según la clasificación del peso al nacer en función de la inmadurez del sistema HHT y según la clasificación propuesta por la OMS. Para el objetivo de nuestro estudio tiene más sentido la primera, ya que atiende a una clasificación en función de la regulación del eje HHT, mientras que la dada por la OMS es más general, y atiende a la asistencia sanitaria general del recién nacido.

Al estudiar individualmente la influencia del peso al nacer según la clasificación en función de la inmadurez del sistema HHT, se observa que las concentraciones de TSH entre grupos tienen una diferencia estadísticamente significativa. En concreto, los RNP de bajo peso al nacer (< 1500 g) poseen una TSH menor que los que no tienen bajo peso al nacer.

Al estudiar individualmente la influencia del peso al nacer según la clasificación de la OMS se observan resultados similares, obteniéndose concentraciones de TSH más baja para los grupos con menor peso.

El test de tendencia es significativo, observándose una tendencia positiva, es decir, al aumentar el peso aumenta también la concentración de TSH. Ello se ve reflejado en una diferencia significativa de TSH en todas las comparaciones entre grupos excepto en la comparación entre bajo peso y normopeso.

De las dos formas de categorizar el peso se puede observar gráficamente la adecuación de la elección de la clasificación del peso al nacer en función de la inmadurez del sistema HHT, para comparar la concentración de TSH en detrimento de la clasificación de la OMS.

Según la clasificación de peso al nacer de la OMS se observa como la distribución de TSH de los grupos muy bajo y extremadamente bajo (Figura 26) son muy similares entre sí, siendo las distribuciones al mismo tiempo prácticamente idénticas a la del grupo bajo peso al nacer (<1500 g) de la clasificación del peso en función de de la inmadurez del sistema HHT (Figura 28).

Lo mismo ocurre con los grupos normal y bajo de la OMS, que son muy similares entre sí ((Figura 26) y prácticamente idénticas a la distribución de los que no tienen bajo peso al nacer según la clasificación del peso en función de de la inmadurez del sistema HHT (Figura 28).

En la literatura hay discrepancia de resultados entre la concentración de TSH y el bajo peso al nacer, debido en gran parte a la falta de estandarización del considerado bajo peso al nacer, publicándose algunos artículos en los que la concentración de TSH es menor en los de bajo peso al nacer (Nieto-Díaz A, 1996) y otros en los que la concentración de TSH es mayor en los de bajo peso al nacer (Setia S, 2007).

Entre los factores que se han relacionado con estas discrepancias se incluyen (Franco B, 2013): tamaño reducido de la muestra, distintas formas de clasificación del peso (por percentiles, clasificación de la OMS, en función de la inmadurez del sistema HHT), distintos tipos de muestra (suero, sangre, cordón), distintos momentos de estudio (al nacer, en el primer mes de vida, en la infancia), mezcla de RNP y RNT en el análisis estadístico, no exclusión de enfermos de HC que hace que los de bajo peso presenten mayor concentración de TSH al ser la incidencia de HC mayor en este grupo (Dalili S, 2012), ausencia de análisis estadístico mediante regresión múltiple que quita la influencia de las otras variable, etc.

Atendiendo ya entonces a la clasificación del peso en función de la inmadurez del sistema HHT, que es la más comúnmente aceptada para el estudio de su influencia con la TSH en recién nacidos, se observan resultados similares a la literatura (Bijarnia S, 2011), en los que los de bajo peso presentan concentraciones de TSH más bajas por la mayor inmadurez de su sistema.

El análisis multivariable de la variable bajo peso al nacer (< 1500 g) en el estudio sobre su influencia con la TSH, es especialmente importante, ya que un bajo peso al nacer está relacionado con un mayor grado de prematuridad. Así el análisis multivariable nos permitirá conocer si estas diferencias observadas en el análisis individual entre bajo peso (< 1500 g) y TSH se deben sólo al bajo peso, sólo al mayor grado de prematuridad en este grupo, o a debido a ambas variables.

Al controlar el bajo peso al nacer (< 1500 g) por las variables edad gestacional (semanas), días de vida y mes frío mediante análisis multivariable, se observó que los de bajo peso al nacer (< 1500 g) presentaban concentraciones de TSH de 0,28 μ U/ml menores que los que no tienen bajo peso al nacer.

6.3.3 Influencia de los días de vida en la concentración de TSH en RNP

Analizando la influencia de la adecuación de la muestra sobre la concentración de TSH se observan diferencias significativas entre una muestra temprana y una muestra que no es temprana. Dichas diferencias se confirman mediante regresión lineal múltiple, siendo la diferencia de concentración de TSH de las muestras tempranas de 1,03 μ U/ml superiores a los que no lo son.

Este hecho es de gran importancia, ya que a pesar de que las muestras tempranas sólo representan el 3,7% del total de las muestras, podrían ocasionar un inadecuado cribado de HC del recién nacido, clasificándolo inadecuadamente como “dudoso de padecer HC” (Slaughter JL, 2010) con la consecuente repetición de pruebas, mayor estrés para los padres, menor eficiencia del uso del sistema sanitario, etc.

No se observan diferencias significativas entre el grupo adecuado y tarde. La razón de esta distinción en su clasificación, no atiende a su influencia en la variación de la concentración de TSH, sino al hecho de que realizar el cribado antes del 7º día de

nacer, permite que los diagnosticados de HC se puedan tratar cuanto antes, mejorando el pronóstico y disminuyendo los daños neurológicos.

Desde el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana se debe volver a insistir en este punto con una mayor comunicación con los padres y/o tutores legales del recién nacido y con una mayor formación en este punto de las personas extractoras, con el objetivo de que la extracción se realice entre el 2º y 7º día después de nacer en todos los niños.

Analizando las medianas de la concentración de TSH en los distintos grupos de prematuros se observa que los RNPT (Figura 32) siguen una distribución similar a la de los RNT de la Figura 23, pero a concentraciones más bajas, al igual que los RNMP cuyo pico de concentración máxima en el primer día no es tan pronunciado. En el caso de los RNEP no se produce el pico de concentración máxima a pesar de que las concentraciones de TSH en el periodo 0-1 son más altas que en el resto de su distribución.

Estos hallazgos son similares a los descritos en la bibliografía (Klein RZ, 1997; Murphy N, 2004) y son debidos al grado de inmadurez del eje HHT en su respuesta frente a los estímulos. De esta forma los RNPT, con un eje HHT casi maduro, pueden responder de forma similar a los RNT frente a los estímulos del cambio a un medio más frío (extrauterino) y al corte del cordón umbilical durante el periodo 0-1^{er} día. Los RNMP responden de forma similar pero en menor medida, debido a la mayor inmadurez de su eje HHT, mientras que los RNEP al ser tan inmaduro no responden (Biswas S, 2002; Ares S, 2008).

Se han hallado distribuciones de TSH según días de vida similares en otros estudios (Van Wassenaer AG, 2004).

Analizando la evolución según los días de vida de las medianas de concentración de TSH en función del bajo peso (<1500 g) se observa que los que tienen peso al nacer >1500 g, y por tanto maduro el sistema HHT, presentan un patrón similar al anteriormente observado en los RNT de la Figura 23, aunque a menores concentraciones, con un pico de concentración característico en el primer día de vida. Sin embargo, los de bajo peso al nacer <1500 g no presentan el pico característico en el primer día de vida.

Ningún estudio hasta la fecha se ha planteado si la ausencia del pico característico de concentración de TSH del primer día en RNP debido a la inmadurez de su sistema, se debe a la edad gestacional, al bajo peso al nacer o a la influencia de ambas variables. El análisis multivariante que incluyó ambas variables, pone de manifiesto que ambas influyen en la aparición del pico máximo de concentración de TSH.

En RNEP (Figura 33) no se produce el pico máximo de concentración de TSH característico de los primeros días de vida, debido a la inmadurez de su sistema e incapacidad para responder frente los estímulos del cambio a un medio más frío (extrauterino) y al corte del cordón umbilical.

En los RNMP (Figura 34) se produce el pico máximo de concentración de TSH característico del primer día de vida sólo en los que no tienen bajo peso. Esto es debido a que poseen la suficiente madurez para responder a los estímulos, hecho que no ocurre en los RNMP con bajo peso al nacer.

En los RNPT (Figura 35) se produce el pico máximo de concentración de TSH característico en los dos grupos, ya que ambos grupos tienen la suficiente madurez para responder a los estímulos, aunque en los RNPT de bajo peso el pico máximo se produce al segundo día. Sin embargo, este hecho es debido a que no se obtuvo ningún dato de RNPT de bajo peso con una muestra extraída con un día de vida, pero sí con dos días de vida. Es de esperar que en el caso de haberse recogido, el pico máximo de TSH fuera en el primer día.

6.3.4 Influencia del sexo en la concentración de TSH en RNP

A pesar de que la incidencia observada de HC en otros estudios, es más frecuente en mujeres que en hombres (Medda E, 2005; Hinton CF, 2010; Dalili S, 2012) las medias y medianas de las concentraciones de TSH en los sexos masculino y femenino en RNP son similares, no siendo significativa su diferencia como ocurren en otros estudios (Eugène D, 2005; Unüvar T, 2013), si bien es cierto que la diferencias encontradas en otros estudios se refieren a RNT en general y no a RNP.

El hecho de no encontrar diferencias entre sexos puede ser debido entre otras causas (falta de análisis multivariable, baja muestra, etc) a que las diferencias en la TSH entre sexos no se observan hasta que el niño comienza a desarrollarse, observándose las primeras diferencias en la edad pediátrica (Zurakowski D, 1999) y acrecentándose en la adolescencia y edad adulta (Charler EA, 2012).

6.3.5 Influencia de ser gemelo en la concentración de TSH en RNP

No se observa influencia estadísticamente significativa mediante regresión lineal múltiple, en la concentración de TSH en los RNP entre el hecho de ser gemelo o no serlo.

El hecho de que el análisis individual de dicha variable sobre la concentración de TSH resulte significativo, es debido a la presencia de un factor de confusión. El factor de confusión es otra variable del estudio que sí influye sobre la concentración de la TSH y está en mayor medida en un grupo que en otro, haciendo resultar una diferencia significativa entre TSH y ser gemelo, cuando ésta no existe, como se observa mediante el análisis de regresión múltiple.

En este caso, la variable confundidora en el análisis entre la concentración de TSH y ser gemelo es el bajo peso al nacer (< 1500 g), es decir, en el grupo de gemelos hay recién nacidos con bajo peso al nacer (< 1500 g) en mayor proporción que en el grupo de no gemelos. Este hecho y no el de ser gemelos, es el que hace que la relación individual entre TSH y ser gemelo resulte significativa.

La mayor frecuencia de bajo peso al nacer (< 1500 g) en gemelos tiene su explicación. Entre otras causas del embarazo gemelar, se encuentra la edad de la madre. Madres de edades mayores de 35 años tienen más probabilidad de una concepción múltiple (Lee YM, 2012; Rezavand N, 2014), debido a causas hormonales, ya que hay un incremento de la estimulación folicular ovárica que provoca que los folículos produzcan múltiples óvulos, y a un mayor uso de este grupo poblacional de técnicas de reproducción asistidas e in vitro, que a su vez, también originan una mayor probabilidad de embarazo múltiple (Han JL, 2010).

Una mayor edad materna está relacionada a su vez, con mayor riesgo de RNP (Prunet C, 2014) y de bajo peso al nacer (Shinwell ES, 2002; DeLuca LM, 2013). Por ello, al analizar la relación en recién nacidos entre ser gemelo y TSH hay que tener en cuenta las posibles variables confundidoras e incluirlas en el análisis: bajo peso al nacer (< 1500 g), RNP y edad de la madre. De ellas sólo resultó variable confundidora el bajo peso al nacer (< 1500 g).

Se ha observado que en RNP sin HC (sanos) la concentración de TSH no está influida por el hecho de ser o no ser gemelo. Sin embargo, en la incidencia de esta enfermedad (enfermos) no ocurre lo mismo, ya que la incidencia de HC es mayor en gemelos (Medda E, 2005; Olivieri A, 2007) que en no gemelos, debido a que la probabilidad de poseer una alteración genética que desencadene la enfermedad es más probable entre hermanos gemelos que en no gemelos (Akin MA, 2011).

6.3.6 Influencia de la edad de la madre en la concentración de TSH en RNP

No se observa influencia estadísticamente significativa entre la edad de la madre y la concentración de TSH en los RNP, como tampoco se observan en otros estudios (Medda E, 2005).

La dispersión gráfica de los valores de los extremos (edad de la madre < 15 años y edad de la madre > de 46 años) se debe a que existen pocos sujetos en esas edades (n de 8 y 16 respectivamente) con respecto a las edades de los valores centrales. El pico de concentración de las menores de 15 años se debe al caso de un único RNP con una madre de 14 años, por lo que el resultado no es generalizable para todo este grupo de edad.

Existen pocos estudios que encuentren que la edad de la madre influya en la concentración de TSH del recién nacido (Harris KB, 2007). Estos estudios tienen la limitación de no tener en cuenta las variables confundidoras ni de los recién nacidos como grado de prematuridad o peso al nacer entre otros, ni de la madre como enfermedad tiroidea o presencia de anticuerpos antitiroideos (Stagnaro-Green A, 2011).

6.3.7 Influencia del mes frío en la concentración de TSH en RNP

Se observan diferencias significativas en la concentración de TSH de los RNP según si el mes de la extracción es un mes frío o no, analizando mediante regresión lineal múltiple. La concentración de TSH es de 0,10 μ U/ml más alta en los meses fríos que en los meses sin frío.

Las hormonas tiroideas junto con el sistema nervioso simpático están implicadas en gran medida en la regulación de la homeotermia. Ante situaciones de frío la termogénesis se activa por el sistema nervioso simpático y se modula por las hormonas tiroideas. La MDI-II desempeña un papel crítico, al modular la conversión de T₃, que activa los mecanismos de termogénesis (Silva JE, 2006). Ante exposiciones al frío en un primer momento aumenta la concentración TSH para una mayor síntesis de T₃ y posteriormente, cuando las concentraciones de T₃ son altas, disminuye la TSH (Silvestry E, 2005), especialmente en exposiciones largas al frío (Palinkas LA, 2009).

En los RNP la exposición al frío se ve agravada por una mayor pérdida de calor debido a factores asociados a la prematuridad: alta relación superficie/volumen, menor aislamiento cutáneo especialmente en los < 1500 g, control vasomotor inmaduro y postura corporal que le impide cambiar su posición en flexión de las cuatro extremidades.

Esta exposición al frío hace que se sintetice TSH para estimular la síntesis de T₃, aunque la respuesta sea en menor medida de lo que cabría esperar, debido a la inmadurez del sistema HHT y a la capacidad termogénica inmadura del RNP.

Las diferencias de concentración de TSH encontradas son pequeñas, de 0,10 μ U/ml, pero significativas. Algunos hechos contribuyen a que las diferencias no sean mayores como: la inmadurez del sistema HHT de los RNP que impiden una respuesta en mayor medida, las temperaturas cálidas de Alicante incluso en los meses de frío y el hecho de que los RNP permanecen en incubadoras que atenúan el frío hasta que completan su desarrollo.

No hay estudios en este sentido en RNP, pero sí en recién nacidos, en los que se observa una mayor incidencia de HC durante los meses de frío, especialmente en

regiones donde los meses fríos tienen temperaturas extremas (Hall SK, 1999; Nakamizo M, 2005; Hashemipour M, 2007; Gu YH, 2007).

6.4 Evaluación de la maduración del eje tiroideo: evolución de TSH intrasujeto

Debido a las bajas concentraciones de TSH de los RNP en comparación con las de los RNT, el límite de concentración de TSH para los RNT de los programas de cribado de HC no es eficaz para los RNP y/o los recién nacidos de bajo peso < 1500 g (Tylek-Lemanska D, 2005).

Por ello la decisión tomada por muchos programas de cribado de HC, entre los que se incluye el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana, es la de repetir el cribado de RNP transcurridas unas semanas (Mandel, 2000; Larson, 2003; Gruñeiro-Papendieck, 2005; Woo HC, 2011; Korzeniewski SJ, 2013), aunque algunos autores defiendan la estrategia de adecuar los límites de decisión en RNP (Korada M, 2008).

Sin embargo es necesario establecer un consenso y adecuar un protocolo más específico para este grupo poblacional que resuelva las dudas de: cuándo repetir el cribado, si se debe repetir más de una vez y qué límites de decisión se deben emplear (Silva SA, 2010).

Aprovechando la recomendación tomada por el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana de repetir el cribado de HC en RNP, se analizó la influencia en la concentración de la TSH de la maduración del RNP, considerando la maduración en el momento en el que cambia de un grupo a otro de la clasificación de edad gestacional según grado de prematuridad de la OMS.

Así se observa cómo a pesar de la recomendación del programa de cribado, en el periodo de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012 sólo se recibió muestra para repetir el cribado en 615 RNP de 6520 iniciales que se cribaron.

Esto supone que se volvió a cribar a sólo a 9,43% de la muestra inicial. Las razones son variadas: desconocimiento o falta de información de los padres o tutores

legales de la necesidad de volver a repetir la prueba, recién nacidos que se encuentran ya en el hogar y fuera del ámbito sanitario, falta de información de las personas encargadas de comunicárselo a los padres o tutores legales, no conformidad de los padres o tutores legales a que se repita el cribado del niño, etc.

Desde el programa de cribado de metabolopatías de la Generalitat Valenciana se debe insistir en la formación del personal que dé esa información a los padres o tutores legales del RNP y a darle la importancia que requiere al hecho de que si no se vuelve a cribar de HC a los RNP algunos enfermos podrían escapar del cribado sin ser diagnosticados.

Cuatro de los 615 RNP que se volvieron a cribar fueron diagnosticados de HC, siendo uno RNMP y tres RNPT. Se observa también como dos de ellos en el primer tuvieron concentraciones de TSH $< 7,5 \mu\text{U/ml}$, que es el límite fijado como dudoso (Figura 18), no observándose concentraciones $\geq 7,5 \mu\text{U/ml}$ hasta dos semanas después de volver a repetirse el cribado. También se observa en tres de ellos como no llegan a superar en ninguno de los tres cribados realizados concentraciones de TSH $> 10 \mu\text{U/ml}$.

Estos hechos denotan la necesidad de adecuar los límites de decisión en el cribado de HC en RNP (Korada M, 2008), además de volver a cribar a este grupo poblacional.

De los 615 RNP que se volvieron a cribar, sólo se analizó la influencia en la TSH de los que cambiaron de grado de prematuridad, que fueron 487. La ventaja de este análisis intrasujeto, es que elimina la influencia de otras variables no recogidas en el estudio que podrían influir en la concentración de TSH, como variables genéticas entre otras.

Al realizar la subdivisión según el tipo de cambio según grado de prematuridad corregida, algunos grupos se quedan con una n muy baja (ejemplo de n de 8 en el cambio de RNEP a RNT) que hace que las diferencias encontradas no sean estadísticamente significativas como cabría esperar. Si se aumentara el tamaño de la muestra es de esperar que se hallasen diferencias significativas ya que el IC aunque incluye al cero posee un límite inferior muy cercano a éste.

A pesar de ello, en líneas generales se puede observar con el análisis intrasujeto lo mismo que lo observado en el análisis multivariable y en el análisis individual de la

edad gestacional con la TSH: la concentración de TSH es menor en los grupos gestacionales de mayor grado de prematuridad y que estas diferencias siguen una tendencia negativa, es decir, las concentraciones de TSH de RNEP < TSH de RNMP < TSH de RNPT < TSH de RNT.

Además conforme va creciendo y desarrollándose el RNP (pasando de grupo según grado de prematuridad corregido) aumentan también su concentración de TSH.

6.5 Valores de referencia

A pesar del debate acerca de la necesidad de establecer IR para los RNP de forma general (Cummings JJ, 2012) o para los subgrupos de RNP según grado de prematuridad de forma más específica (Lott JA, 2004), pocos estudios hay publicados con la realización de los mismos (Adams LM, 1995; Clarck SJ, 2001; Zhu L, 2013).

Teniendo todos ellos limitaciones similares: muestras con poco sujetos (n de 100 a 160), no representativas de la población asistida a la que se pretenden generalizar, sin medición de variables confundidoras (como bajo peso al nacer o mes frío entre otras), ni realización por subtipos de RNP según grado de prematuridad.

En algunos de ellos, esas limitaciones tienen como consecuencias unos IR muy amplios, tanto que algunos intervalos superiores de TSH superan incluso el límite de decisión de TSH de 7,5 μ U/ml de los RNT. Por ello no son útiles para el empleo en la práctica clínica en ningún programa de cribado de HC.

En este sentido nuestro estudio tiene grandes fortalezas ya que es el único con un tamaño de muestra amplio (n=6.161), representativo de la población general ya que se tomaron la muestra de todos los RNP cribado sin muestreo de ningún tipo, realizados por subtipo de RNP según grado de prematuridad y dentro de ellos según las variables influyentes.

No se realizaron IR atendiendo a los días de vida, ya que las muestras enviadas tempranas, no son recomendables para el cribado de HC y por ello no tiene sentido incluirlas en el análisis para el cálculo de los IR.

Los IR realizados tienen el inconveniente de que la n resulta pequeña en algunos subgrupos (n de 45) y que la comparación entre los IR de n<120 sujetos y n>120 sujetos no puede hacerse ya que al estar realizados por diferentes métodos no son comparables. De acorde a las directrices de la CLSI de realización de IR (CLSI, 2008), los sujetos de n < 120 sujetos fueron realizados con el método robusto (Horn P, 1998) y los de n>120 con el método no paramétrico.

Otra de las limitaciones es que las variables recogidas influyentes en la concentración de TSH (adecuación de la muestra, bajo peso al nacer, mes frío y grado de prematuridad) sólo explican un 15,4 % (R^2 del modelo de regresión múltiple de 0,154) de la variación de la concentración de TSH en los RNP.

Esto es debido a que en la concentración de TSH influyen numerosos factores no estudiados como: consumo de yodo durante el embarazo (Mark V, 2011), factores genéticos (Trueba SS, 2005), presencia de enfermedad tiroidea materna durante el embarazo (Stagnaro-Green A, 2011), etc.

Para incluir una variable que explicara una variación importante de TSH y se pudiera incluir en el modelo debería cumplir una serie de características en consonancia con el programa de cribado: de fácil recogida, económica, sin perjuicio o daño para el participante, que explique un porcentaje importante en la variación de TSH y estandarizable. En este sentido consideramos que no existen muchas variables que cumplan con esas características, por lo que a pesar de que las variables recogidas explican sólo un 15,4% de la variación, consideramos que son suficientes para la realización de los IR.

El cálculo de estos IR han permitido conocer mejor la variación de TSH de los RNP y plantea evidencias para acordar los límites de decisión de TSH para los RNP.

Debido a las fortalezas de los mismos, estos IR podrán usarse en la práctica clínica, tras una validación adecuada y teniendo en cuenta sus limitaciones, para una mejor interpretación del cribado de HC en RNP y un mejor abordaje del mismo.

En este sentido, si se hubieran adoptado estos IR, los 4 casos que se escaparon en el primer cribado y que luego fueron enfermos, hubieran llamado la atención desde el primer cribado ya que hubieran quedado fuera de su IR respectivo.

En cuanto a las limitaciones de estos IR, se podrán subsanar con el paso de unos años, al poder incluir una n mayor en aquellos grupos con menor potencia estadística.

La puesta en marcha y uso de estos IR en la práctica clínica permitirá además resolver alguna de las dudas que se tiene hoy en día en el cribado de HC en RNP, especialmente aclarar si se debe repetir el cribado a todos los RNP o sólo a aquellos que queden fuera del IR.





7. Conclusiones



7. CONCLUSIONES

1. La concentración de TSH neonatal de los recién nacidos pretérmino es menor que la observada en los recién nacidos a término, por lo que los límites de decisión del cribado de hipotiroidismo congénito en los recién nacidos pretérmino no deben ser los mismos que en los recién nacidos a término, lo que conlleva a volver a repetir el cribado en los recién nacidos pretérmino y a establecer unos intervalos de referencia de TSH específicos para los recién nacidos pretérmino.

2. La prevalencia de HC en Alicante durante el periodo 2008-2012 es más alta en los recién nacidos pretérmino que en los recién nacidos a término.

3. Los recién nacidos extremadamente prematuros son los que tienen menores concentraciones de TSH, seguidos de los recién nacidos muy prematuros, de los recién nacidos prematuros tardíos y de los recién nacidos a término, estando estas diferencias relacionadas con la mayor inmadurez de los grupos poblacionales con un mayor grado de prematuridad

4. Los recién nacidos pretérmino de bajo peso al nacer (< 1500 g) presentan concentraciones de TSH menores que los que no tienen bajo peso al nacer (≥ 1500 g).

5. Las muestras extraídas en el periodo 0-1^{er} día tienen concentraciones de TSH mayores a las muestras extraídas después del primer día.

6. La distribución de TSH según días de vida en los RNP difiere de la de los RNT, siendo la diferencia mayor conforme mayor es el grado de prematuridad del RNP.

7. El pico máximo de TSH que aparece el primer día depende del grado de prematuridad y del peso al nacer, apareciendo en todos los recién nacidos pretérmino excepto en los recién nacidos muy prematuros de bajo peso al nacer (< 1500 g) y en todos los recién nacidos extremadamente pretérmino.

9. Ni el sexo, ni ser gemelo ni la edad de la madre en los recién nacidos pretérmino influye en la concentración de TSH.

10. La concentración de TSH en recién nacidos pretérmino es más alta en los meses fríos que en los meses sin frío

11. El modelo de regresión multivariable indica que las variables influyentes en la TSH son: edad gestacional, nacer en mes frío, días de vida y bajo peso al nacer (< 1500 g); teniendo mayores concentraciones de TSH con respecto a su referencia si se nace en un mes frío, si se tiene < 2 días de vida y si no se tiene bajo peso al nacer (< 1500 g), y aumentándose conforme va aumentando la edad gestacional.

12. Cuatro recién nacidos pretérmino fueron diagnosticados de HC al repetirse el cribado de HC en el periodo 2008-2012, siendo uno RNMP y tres RNPT.

13. Si se hubieran utilizado los intervalos de referencia calculados en esta tesis, los 4 casos de HC que se escaparon en el primer cribado, hubieran sido detectados en el primer cribado al quedar fuera de su IR respectivo.

14. La concentración de TSH cambia en un mismo sujeto, aumentándose la concentración conforme va disminuyendo su grado de prematuridad.

15. Los intervalos de referencia calculados en esta tesis podrán ser usados en la práctica clínica, tras una validación adecuada, debiendo ser tenidas en cuenta sus fortalezas y limitaciones para una correcta interpretación.





7. Bibliografía



7. BIBLIOGRAFÍA

- Abduljabbar MA, Afifi AM. Congenital hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25(1-2):13-29.
- Adams LM, Emery JR, Clark SJ, et al. Reference ranges for newer thyroid function tests in premature infants. *J Pediatr* 1995; 126:122.
- Aitken J, Williams FL. A systematic review of thyroid dysfunction in preterm neonates exposed to topical iodine. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013.
- Akin MA, Güneş T, Akin L, Çoban D, Oncu SK, Kiraz A, Kurtoğlu S. Thyroid hypoplasia as a cause of congenital hypothyroidism in monozygotic twins concordant for Rubinstein-Taybi syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2011;3(1):32-5.
- Aldrimer M, Ridefelt P, Rödöö P, Niklasson F, Gustafsson J, Hellberg D. Reference intervals on the Abbot Architect for serum thyroid hormones, lipids and prolactin in healthy children in a population-based study. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012 Jul;72(4):326-32.
- Aliefendioğlu D, Sanli C, Cakmak M, Açar A, Albayrak M, Evliyaoğlu O. Wolff-Chaikoff effect in a newborn: is it an overlooked problem? *J Pediatr Surg.* 2006 Dec;41(12):e1-3.
- Alm J, Hagenfeldt L, Larsson A, Lundberg K: Incidence of congenital hypothyroidism: retrospective study of neonatal laboratory screening versus clinical symptoms as indicators leading to diagnosis. *BrMedJ (ClinResEd)* 1984, 289(6453):1171-1175
- Andersson M, Karumbunathan V, Zimmermann MB. Global Iodine Status in 2011 and Trends over the Past Decade. *J Nutr.* 2012 Apr;142(4):744-50
- Arai H, Goto R, Matsuda T, Takahashi T. Relationship between free T4 levels and postnatal steroid therapy in preterm infants. *Pediatr Int* 2009; 51:800.
- Ares S, Pastor I, Quero J, et al: Thyroid gland volume as measured by ultrasonography in preterm infants. *Acta Paediatr* 1995; 84:58-62

- Ares S, Escobar-Morreale HF, Quero J, et al. Neonatal hypothyroxinemia: effects of iodine intake and premature birth. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1704.
- Ares S, Quero J, Morreale de Escobar G: Neonatal iodine deficiency: clinical aspects. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; 18:1257-1264
- Ares S, Quero J, Morreale de Escobar G. Iodine balance, iatrogenic excess, and thyroid dysfunction in premature newborns. *Semin Perinatol* 2008;32:407–12
- Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE). Programa de cribado neonatal en España. 2012
- Aytekin M, Emerk K. An accurate reference intervals are required for accurate diagnosis and monitoring of patients. *EJIFCC* 2008;19:1–5.
- Avery ME, Richardson D. History and Epidemiology. In: *Avery's diseases of the newborn*. 7 ed. Taeussch HW, Ballard RA, Eds. WB Saunders Company 1988. USA. Ch 1; 1-12.
- Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Fedt-Rasmussen U, Henry JF. Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice Guidelines. Laboratory support for the diagnostic and monitoring of thyroid disease. *Thyroid*. 2003;13:3–126.
- Bijarnia S, Wilcken B, Wiley VC. Newborn screening for congenital hypothyroidism in very-low-birth-weight babies: the need for a second test. *J Inherit Metab Dis* 2011; 34:827.
- Biswas S, Buffery J, Enoch H, Bland JM, Walters D, Markiewicz M. A longitudinal assessment of thyroid hormone concentrations in preterm infants younger than 30 weeks' gestation during the first 2 weeks of life and their relationship to outcome. *Pediatrics*. 2002 Feb;109(2):222-7.
- Blencowe H, Cousens S, Oestergaard M, Chou D, Moiler AB, Narwal R, Adler A, Garcia C, Rhodes S, Say L and Lawn JE. National, regional and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends for selected countries since 1990: a systematic analysis. *The Lancet*

- Blumenfeld TA, Turi GK, Blanc WA. Recommended site and depth of newborn heel skin punctures based on anatomical measurements and histopathology. *Lancet*. 1979; 1:230.
- Box G, Cox D. An analysis of transformations. *J Royal Statistical Society*. 1964; B26:211-252.
- Braverman L, Cooper D, Werner, Ingbar's. *The thyroid a fundamental and clinical text*. Ed Loppincott Williams & Wilkins. 2013
- Burkhardt K, Ittermann T, Heier M, Kirchberger I, Völzke H, Wallaschofski H, Below H, Nauck M, Meisinger C. TSH-reference range of adults: results from the population-based study KORA F4. *Dtsch Med Wochenschr*. 2014 Feb;139(7):317-22.
- Burrow GN, Fisher DA, Larsen PR: Maternal and fetal thyroid function. *N Engl J Med* 331:1072-1078, 1994
- Carrascosa A, Ruiz-Cuevas P, Potau N, et al. Thyroid function in seventy-five healthy preterm infants thirty to thirty-five weeks of gestational age: a prospective and longitudinal study during the first year of life. *Thyroid* 2004; 14:435.
- Carrascosa A, Ruiz-Cuevas P, Clemente M, et al. Thyroid function in 76 sick preterm infants 30-36 weeks: results from a longitudinal study. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2008; 21:237.
- Cassio A, Corbetta C, Antonozzi I, Calaciura F, Caruso U, Cesaretti G, Gastaldi R, Medda E, Mosca F, Pasquini E, Salerno MC, Stoppioni V, Tonacchera M, Weber G, Olivieri A; The Italian screening program for primary congenital hypothyroidism: actions to improve screening, diagnosis, follow-up, and surveillance. *J Endocrinol Invest*. 2013 Mar;36(3)
- Charler EA, Fiorenzano R, Chilelli C, Llinares V, Areny G, Herzovich M, Maceiras M, Lazzati JM, Mendioroz M, Rivarola MA, Belgorosky A. Age-specific thyroid hormone and thyrotropin reference intervals for a pediatric and adolescent population. *Clin Chem Lab*. 2012 Apr 19;50(5): 885-90.
- Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev*. 2010;31(2):139-170.

- Chiamolera MI, Wondisford FE. Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology*. 2009;150(3):1091–1096.
- Chung HR, Shin CH, Won s, Won C, Il B, Kyung E, Suk H, and Hwan J. High incidence of Thyroid Dysfunction in Preterm Infants *J Korean Med Sci* 2009; 24: 627-31
- Clark SJ, Demming DD, Emery JR, Adams LM, Carlton EI, Nelson JC. Reference ranges for thyroid function tests in premature infants beyond the first week of life. 2001 *J Perinatol* 21:531–536
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline- Third Edition. CLSI document M29-A3 [ISBN 1-56238-567-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
- CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document C28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Newborn screening for preterm, low birth weight, and sick newborns; approved guideline. CLSI document I/LA31-A. Wayne, PA: Clinical And Laboratory Standards Institute, 2009
- Connelly JF, Coakley JC, Francis I, Mathur KS, Richards AL, Price GL, Halliday JL, Wolfe R. Newborn screening for congenital hypothyroidism, Victoria Australia 1977-1997. The screening program, demography, baselina perinatal data and diagnostic classification. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2001; 14:1597-600.
- Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics*. 3^a ed.. New York: John Wiley and Sons; 1999.
- Contempre B, Jauniaux E, Calvo R, et al: Detection of thyroid hormones in human embryonic cavities during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 77:1719-1722, 1993.
- Cortés E, Rizo-Baeza MM, Aguilar MJ, Rizo-Baeza J and Gil-Guillén V. Maternal age as risk factor of prematurity in Spain; Mediterranean area. *Nutr Hosp* 2013;28(5):1536-1540.

- Cummings JJ. Guideline addresses challenges of newborn screening in preterm, ill infants. *AAP News* 2012;33:22.
- Dalili S, Rezvany SM, Dadashi A, Medghalchi A, Mohammadi H, Dalili H, Mirzanejad M, Gholamnezhad H, Amirhakimi A. Congenital hypothyroidism: a review of the risk factors. *Acta Med Iran.* 2012 Nov;50(11):735-9.
- Deladoëy J, Ruel J, Guiguere Y, Van Vliet G. Is the incidence of congenital hypothyroidism really increasing? A 20-years retrospective population-based study in Quebec. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 Aug;96(8):2422-9
- Delange F, Dalhem A, Bourdoux P, Lagasse R, Glinoeer D, Fisher DA, Walfish PG, Ermans AM. Increased risk of primary hypothyroidism in preterm infants.
- Delbert A. Fisher, MD. Thyroid system immaturities in very low birth weight premature infants. *Semin Perinatol.* 2008 Dec;32(6):387-97. doi: 10.1053/j.semperi.2008.09.003.
- DeLong GR, Robbins J, Condliffe PG. Iodine exposure and the brain. New York: Plenum Press; 1989.
- DeLuca LM, Fox NS, Green RS, Stroustruo A, Harris M, Holzman IR, Gibbs K. Ovulation induction and small for gestational age neonates in twin pregnancies. *J Neonatal Perinatal Med* 2013; 6(3):217-24.
- DeGroot LJ: Nonthyroidal illness syndrome, in DeGroot LJ, Jameson JL (eds): *Endocrinology* (ed 5). Philadelphia, PA, Elsevier-Saunders, 2006, pp 2101-2112
- Despopoulos A, Silbernagl S. *Color atlas of physiology.* Ed Thieme. 5^a Ed. 2001
- DeZegher F, Vanhold C, van den Berghe G, et al: Properties of thyroid stimulating hormone and cortisol secretion by the human newborn on the day of birth. *J Clin Endocrinol Metab* 79:576-581, 1994
- Doménech JM. Proceso avanzado de datos sanitarios (SPSS y Stata): evaluación de la calidad de los datos. *Método UAB* 2012; 3-5.
- Glinoeer D, Spencer C. Serum TSH determinations in pregnancy: how, when and why? *Nature Reviews Endocrinology* 2010. 6, 526-529

Effects of neonatal screening for hypothyroidism: prevention of mental retardation by treatment before clinical manifestations. *The Lancet*, 1981, Nov;318: 1095 – 1098.

-Espada M, Dulin E. Procedimiento para la obtención de especímenes de sangre sobre papel de filtro en los Programas de Detección Precoz Neonatal de Errores Congénitos del Metabolismo. *Química Clínica* 2001; 20 (2) 81-88.

-Eugène D, Djemli A, Van Vliet G. Sexual dimorphism of thyroid function in newborns with congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2696.

-European Society of Pediatric Endocrinology (ESPE), Working Group on Congenital Hypothyroidism, Epidemiological Inquiry on Congenital Hypothyroidism in Europe (1985-1988), *Hor. Res.* 34 (1990) 1–3

-Evans C, Neale S, Geen J, Jones G, Mannings L, Trow S, Brain A, Nix B, Ellis R, Hancock S, Shine B, Warner J, Gregory JW, Moat SJ. Neonatal plasma TSH--estimated upper reference intervals for diagnosis and follow up of congenital hypothyroidism. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011 Sep;71(5):394-8

-Fan J, Han M, Tao J, Luo J, Song M, Yang S and Khor S. Reference intervals for common thyroid function tests, during different stages of pregnancy in Chinese women. *Chinese Medical Journal* 2013;126 (14): 2710-2714

-Feng Y, Bian W, Mu C, Xu Y, Wang F, Qiao W, Huang Y. Establish and verify TSH reference intervals using optimized statistical method by analyzing laboratory-stored data. *J Endocrinol Invest.* 2014 Mar;37(3):277-84

-Fisher DA, Polk DH, Wu SY: Fetal thyroid metabolism; a pluralistic system. *Thyroid* 4:367-371, 1994

-Fisher DA, Brown RS. Thyroid physiology in the perinatal period and during childhood. In: *Werner's and Ingbar's The Thyroid*, Braverman LE, Utiger RD (Eds), Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2000. p.959.

-Fisher DA, Nelson JC, Carlton EI, et al: Maturation of human hypothalamic- pituitary- thyroid function and control. *Thyroid* 10:229-235, 2000

-Fisher DA: Thyroid function and dysfunction in premature infants. *Pediatr Endocrine Rev* 4:317-328, 2007

- Fisher DA, Grueters A: Disorders of the thyroid in the newborn and infant, in Sperling MA (ed): *Pediatric Endocrinology* (ed 3). Philadelphia, PA, Elsevier Saunders, 2008, pp 198-226
- Fontes R, Coeli CR, Aguiar F, Vaisman M. Reference interval of thyroid stimulating hormone and free thyroxine in a reference population over 60 years old and in very old subjects (over 80 years): comparison to young subjects. *Thyroid Res.* 2013 Dec 24;6(1):13.
- Franco B, Laura F, Sara N, Salvatore G. Thyroid function in small for gestational age newborns: a review. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013;5 Suppl 1:2-7.
- Fuse Y, Shimizu M, Uga N, et al: Maturation of feedback control of thyrotropin in premature infants. *J Dev Physiol* 14:17-22, 1990
- Gail M, Williams R, Byar DP, Brown C. How many controls? *J Chronic Dis.* 1976;29:723-31
- Gatracós E, Gómez R, Nicolaidis K, Romero R, Cabero L. *Medicina fetal.* Ed Panamericana. 2007.
- Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeöld A, Bianco AC.. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr Rev.* 2008;29(7):898–938.
- Giuffrè M, Piro E, Corsello G. Prematurity and twinning. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Oct;25 Suppl 3:6-10.
- Gordon CM, Rowitch DH, Mitchell ML, et al. Topical iodine and neonatal hypothyroidism. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995;149:1336- 9.
- Gluckman PD, Sizonenko SV, Bassett NS: The transition from fetus to neonate—an endocrine perspective. *Acta Paediatr Suppl* 428:7-11, 1999
- Gruñeiro-Papendieck L, Chiesa A, Mendez V et al (2005). Efficacy of congenital hypothyroidism neonatal screening in preterms less than 32 weeks of gestational age: more evidence. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18:373–377

- Grüters A, Bieberman H, Krude H. Permanent and transient congenital hypothyroidism. En: Morreale de Escobar G, De Vijlder JJM, Butz S, Hostalek U, eds. The thyroid and brain. 2003. p. 223-33.
- Gu YH, Kato T, Harada S, Inomata H, Saito T, Aoki K. Seasonality in the incidence of congenital hypothyroidism in Japan: gender-specific patterns and correlation with temperature. *Thyroid*. 2007 Sep;17(9):869-74.
- Hall SK, Hutchesson AC, Kirk JM. Congenital hypothyroidism, seasonality and consanguinity in the West Midlands, England. *Acta Paediatr* 1999;88:212–15.
- Han JL, Chen H, Niu ZH, Sun YJ, Sun XX, Zhao XM, Kuang YP, Teng XM, Ji YZ, Wang YB, Feng Y. A 10-year survey on birth defects after in vitro fertilization-embryo transfer in Shanghai. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 010 Feb; 45(2): 124-7.
- Hashemipour M, Amini M, Kelishadi R, Hovsepian S, Haghighi S, Hosseini M, Talaei M. Seasonal variation in the incidence of congenital hypothyroidism in Isfahan, Iran. *Saudi Med J*. 2007 Oct;28(10):1582-6.
- Harris KB, Pass KA: Increase in congenital hypothyroidism in New York State and in the United States. *MolGenetMetab* 2007, 91(3):268-277.
- Hinton CF, Harris KB, Borgfeld L, Drummond-Borg M, Eaton R, Lorey F, Therrell BL, Wallace J, Pass KA. Trends in incidence rates of congenital hypothyroidism related to select demographic factors: data from the United States, California, Massachusetts, New York, and Texas. *Pediatrics*. 2010 May;125 Suppl 2:S37-47.
- Horn P, Pesce A, Copeland B. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem*. 1998;44: 622-631.
- Hoste C, Rigutto S, Van Vliet G, Miot F, De Deken X. Compound heterozygosity for a novel missense mutation and a partial deletion affecting the catalytic core of the H₂O₂ generating enzyme DUOX 2 associated with transient congenital hypothyroidism. *Hum Mutat* 2010;31:E1304-19.
- Howson CP, Kinney MV, Lawn JE. March of Dimes, PMNCH, Save the Children, WHO. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth. World Health Organization. Geneva, 2012.

- Hunter MK, Mandel SH, Sesser DE, et al. Follow-up of newborns with low thyroxine and nonelevated thyroid-stimulating hormone-screening concentrations: results of the 20-year experience in the Northwest Regional Newborn Screening Program. *J Pediatr* 1998; 132:70.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA), Report of the East Asia Project Coordination and Planning Management Meeting, Workshop on congenital hypothyroidism: Quality assurance and validation (RAS 6/32, Tianjin, China 2002), IAEA, Vienna (2002) 10-12.
- IAEA. Screening of newborns for congenital hypothyroidism : guidance for developing programmes. — Vienna : International Atomic Energy Agency, 2005.
- International Organization for Standardization. Medical laboratories - particular requirements for quality and competence. ISO 15189. Geneva: ISO; 2007
- Instituto Nacional de Estadística (2012). Número de nacimientos según edad materna. Cifras INE [www.ine.es].
- Iskaros K, Pickard M, Evans I, et al: Thyroid hormone receptor gene expression in first trimester human fetal brain. *J Clin Endocrinol Metab* 85:2620-2623, 2000
- Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson L, y Isselbacher K. Harrison´s Principles of internal medicine. 16 th edition. 2006
- Kaye CI, Committee on Genetics, Accurso F, et al. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics* 2006; 118:e934.
- Kester MHA, De Mena RM, Obregon MJ, et al: Iodothyronine levels in the human developing brain: major regulatory roles of iodothyronine deiodinases in different area. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3117-3128, 2004.
- Klein RZ, Carlton EL, Faix JD, Frank JE, Hermos RJ, Mullaney D, Nelson JC, Rojas DA, Mitchell ML. Thyroid function in very low birth weight infants. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997 Oct;47(4):411-7.
- Korada M, Pearce MS, Ward Platt MP, et al. Repeat testing for congenital hypothyroidism in preterm infants is unnecessary with an appropriate thyroid stimulating hormone threshold. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Educ* 2008;93:F286–8

- Korzeniewski SJ, Kleyn M, Young WI, Chaiworapongsa T, Schwartz AG, Romero R. Screening for congenital hypothyroidism in newborns transferred to neonatal intensive care. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013 Jul;98(4):F310-5.
- Koopdonk-Kool JM, DeVijlder JJM, Veenboer GJM, et al: Type II and Type III deiodinases in human placenta as a function of gestation age. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2154-2158, 1996.
- L'Allemand D, Gruters A, Beyer P, et al. Iodine in contrast agents and skin disinfectants is the major cause for hypothyroidism in premature infants during intensive care. *Horm Res* 1987;28:42 - 9.
- LaFranchi SH, Murphey WH, Foley TP Jr, et al. Neonatal hypothyroidism detected by the Northwest Regional Screening Program. *Pediatrics* 1979; 63:180.
- Larsen WJ, Sherman LS, Potter SS, Scott WJ. 2001. *Human Embryology*. 3rd Ed. New York: Churchill Livingstone
- Larson C, Hermos R, Delaney A, Daley D, Mitchell M (2003) Risk factors associated with delayed thyrotropin elevations in congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 143:587–591
- Lee MM, Rajagopalan L, Berg GJ, et al: Serum adrenal steroid concentrations in premature infants. *J Clin Endocrinol Metab* 69:1133-1136, 1989.
- Lee YM. Delivery of twins. *Semin Perinatol.* 2012 Jun;36(3):195-200.
- Lehmann EL. *Nonparametric: Statistical methods based on ranks*. San Francisco: Holde-Day; 1975.
- Léger J, Olivieri A, Donaldson M, Torresani T, Krude H, van Vliet G, Polak M, Butler G; ESPE-PES-SLEP-JSPE-APEG-APPES-ISPAE; Congenital Hypothyroidism Consensus Conference Group. European Society for Paediatric Endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Feb;99(2):363-84.
- Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *J Inher Metab Dis.* 2007 Aug;30(4):430-8.

- Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editores. Harrison principios de medicina interna. Vol 2.18ª ed. México: McGraw- Hill; 2012.
- Lott JA, Sardovia-Iyer M, Speakman KS, Lee KK. Age-dependent cutoff values in screening newborns for hypothyroidism. Clin Biochem. 2004 Sep;37(9):791-7.
- Mandel SJ, Hermos RJ, Larson CA, Prigozhin AB, Rogas DA, Mitchell ML (2000) Atypical hypothyroidism and the very low birth weight infant. Thyroid 10:693-695
- Manero H. Variables que pueden influir en el cribado neonatal de hiperfeilalaninemias y fenilcetonuria. Tesis doctoral 2012. Universidad Migueñ Hernández.
- Mark V. The epidemiology of thyroid disease. British Medical Bulletin 2011; 99: 39-51
- Markou K, Georgopoulos N, Kyriazopoulou V, et al. Iodine-induced hypothyroidism. Thyroid 2001;11:501 - 10.
- Marks SD. Nonthyroidal illness syndrome in children. Endocrine. 2009 Dec;36(3):355-67.
- Mayayo E, Santisteban P, Vicens Calvet E. Patología tiroidea fetal y neonatal. En: Argente Oliver J, Carrascosa Lezcano A, Gracia Bouthelie R, Rodríguez Hierro F, eds. Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia. Barcelona: Doyma; 2000. p. 647-700.
- Mayayo E, Santisteban P, Labarta JI, Ferrández A. Hipotiroidismo Congénito. En: M Pombo, editor. Tratado de Endocrinología Pediátrica. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 2008.
- Medda E, Olivieri A, Stazi MA, Grandolfo ME, Fazzini C, Baserga M, Burrioni M, Cacciari E, Calaciura F, Cassio A, Chiovato L, Costa P, Leonardi D, Martucci M, Moschini L, Pagliardini S, Parlato G, Pignero A, Pinchera A, Sala D, Sava L, Stoppioni V, Tancredi F, Valentini F, Vigneri R, Sorcini M. Risk factors for congenital hypothyroidism: results of a population case-control study (1997-2003). Eur J Endocrinol. 2005 Dec;153(6):765-73.
- Mei JV, Alexander JR, Adam BW, Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. J Nutr 2001 May; 131(5): 1631S-6S.

- Mendoza N. Farmacología médica. 1ª Edición.456-457; 2008
- Mengreli C, Kanaka-Gantenbein C, Girginoudis P, Magiakou MA, Christakopoulou I, Giannoulia-Karantana A, Chrousos GP, Dacou-Voutetakis C. Screening for congenital hypothyroidism: the significance of threshold limit in false-negative results. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Sep;95(9):4283-90.
- Mercado M, Yu VYH, Szymonowicz W, Gold H. Thyroid function in very preterm infants. *Early Hum Dev* 1988;1:131–6.
- Mitchell ML, Walraven C, Rojas DA, McIntosh KF, Hermos RJ. Screening very-low-birthweight infants for congenital hypothyroidism. *Lancet* 1994; 343:60.
- Moreno JC, Klootwijk W, Gestel D, Gendie D, Polak M, Grütters A, Visser TJ, DEHAL1 gene mutations cause the idotyrosine dehalogenase deficiency. ESPE/LWPES 7th Joins Meeting Paediatric Endocrinology. Lyon. France September 21-24-2005. *Horm Res* 2005; 64 S1: 18
- Murphy N, Hume R, van Toor H, et al. The hypothalamic-pituitary-thyroid axis in preterm infants; changes in the first 24 hours of postnatal life. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2824.
- Nakamizo M, Toyabe S, Asami T, Akazawa K. Seasonality in the incidence of congenital hypothyroidism in Japan. *J Paediatr Child Health* 2005;41:390
- Ng PC, Lee CH, Lam CW, et al: Transient adrenocortical insufficiency of prematurity and systemic hypotension in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89:F119-F126, 2004
- Nieto-Díaz A, Villar J, Matorras-Weinig R, Valenzuela-Ruiz P. Intrauterine growth retardation at term: association between anthropometric and endocrine parameters. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996;75:127-31.
- Pámpols T, Cortés E, Dulín E. Protocolo para la retención, almacenamiento y uso posteriores de las muestras residuales de sangre seca recogida sobre papel absorbente de los programas de cribado neonatal. *Química Clínica* 2006; 25(2) 97-103.
- Pederna E, Méndez M. Embriología de la clínica. Ed Médica Panamericana 2006

- Obregon MJ, Calvo RM, Del Rey FE, de Escobar GM. Ontogenesis of thyroid function and interactions with maternal function. *Endocr Dev* 2007; 10:86.
- Olivieri A, Medda E, De Angelis S, Valensise H, De Felice M, Fazzini C, Cascino I, Cordeddu V, Sorcini M, Stazi MA; Study Group for Congenital Hypothyroidism. High risk of congenital hypothyroidism in multiple pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Aug;92(8):3141-7.
- Olivieri A, Corbetta C, Weber G, Vigone MC, Fazzini C, Medda E; Italian Study Group for Congenital Hypothyroidism. Congenital hypothyroidism due to defects of thyroid development and mild increase of TSH at screening: data from the Italian National Registry of infants with congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Apr;98(4):1403-8.
- Olney RS, Grosse SD, Vogt RF Jr. Prevalence of congenital hypothyroidism--current trends and future directions: workshop summary. *Pediatrics*. 2010 May;125 Suppl 2:S31-6
- Palinkas LA, Reedy KR, Shepanek M, Smith M, Anghel M, Steel GD, Reeves D, Case Hs, Do NV, Reed HL. Environmental influences on hypothalamic-pituitary-thyroid function and behavior in Antarctica. *Physiol Behav*. 2007 Dec 5;92(5): 790-9
- Petritzko E and Walczak M: Permanent and transient congenital hypothyroidism in full-term and preterm born infants. *Thyroid Research* 2013 6(Suppl 2):A47.
- Prunet C, Goffinet F, Blondel B. Medical care and perinatal health in twin pregnancies: Situation in 2010 and recent trends in France. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2014 Apr 1.
- Rajatapiti P, Kester MHA, de Krijger RR, et al: Expression of glucocorticoid, retinoid, and thyroid hormone receptors during human lung development. *J Clin Endocrinol Metab* 90:4309-4314, 2005
- Rastogi MV, LaFranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J Rare Dis*. 2010 Jun 10;5:17.

- Rezavand N, Veisi F, Malek-Khosravi Sh, Zangeneh M, Kohzadi M. Assessment of Frequency of Twin Preganancy and Neonatal Outcome in Deliveries of Motazedi Hospital, Kermanshah in 2004-2007. *J Obstet Gynaecol India* 2014 Feb; 64(1):19-22.
- Richard K, Hume R, Kaptein E, et al: Ontogeny of iodothyronine deiodinases in human liver. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2868-2874, 1998
- Rizo J. Edad y origen de la madre como factores de riesgo de prematuridad. Tesis Doctoral 2012. Universidad de Alicante
- Rosen F, Ezrin C. Embryology of the thyrotroph. *J Clin Endocrinol Metab* 1966; 26:1343-5.
- Sadler TW, Langman J. 2006. Langman's Medical Embryology. 10th Ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins
- Sáenz P. Nuevo modelo de alta precoz para el niño pretérmino: impacto sobre el bienestar psicológico de los padres, calidad y costes asistenciales. Tesis doctoral Universidad Miguel Hernández, 2008.
- Setia S, Sridhar MG, Bhat V, Chaturvedula L. Growth Hormone in intrauterine growth retarded newborns. *Indian J Pediatr* 2007;74:991-994
- Silva JE. Thermogenic mechanism and their hormonal regulation. *Physiol Rev* 2006 Apr;86(2): 435-64.
- Silva SA, Chagas AJ, Goulart EM, Silva GA, Marçal LV, Gomes MN, Alves VM. Screening for congenital hypothyroidism in extreme premature and/or very low birth weight newborns: the importance of a specific protocol. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2010 Jan-Feb;23(1-2):45-52.
- Silvestri E, Schiavo L, Lombardi A, Goglia F. Thyroid hormones as molecular determinants of thermogenesis. *Acta Physiol Scand*. 2005 Aug;194(4): 265-83.
- Slaughter JL, Meizen-Derr J, Rose SR, Leslie ND, Chandrasekar R, Linard SM, Akinbi HT. The effects of gestational age and birth weight on false-positive newborn-screening rates. *Pediatrics*. 2010 Nov;126(5):910-6.

- Solberg HE. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42(7):710-4.
- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, Nixon A, Pearce E, Soldin O, Sullivan S, Wiersinga W. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid.* 2011;21:1081
- Shields BM, Knight BA, Hill A, Hattersley AT, Vaidya B. Fetal thyroid hormone level at birth is associated with fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jun;96(6):E934-8.
- Shinwell ES. Neonatal and long-term outcomes of very low birth weight infants from single and multiple pregnancies. *Semin Neonatol.* 2002 Jun;7(3):203-9.
- Simopoulos AP; Committee for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SIEM) Genetic screening: programs, principles, and research--thirty years later. Reviewing the recommendations of the Committee for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SIEM). *Public Health Genomics.* 2009;12(2):105-11
- Sorcini, M., Balestrazzi, P., Grandolfo, M.E., Carta, S., Giovannelli, G., The national register of infants with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening. in Italy, *J. Endocrinol. Invest.* 16 (1993) 573–577.
- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, Nixon A, Pearce E, Soldin O, Sullivan S, Wiersinga W. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid.* 2011;21:1081---125
- Stanescu DE. 50 years ago in *The Journal of Pediatrics*: The development of children with congenital hypothyroidism. A note on early, temporary replacement therapy for 2 goitrous infants. *J Pediatr.* 2013 Nov;163(5):1416.
- Therrell, B.L., US newborn screening policy dilemmas for the twenty-first century, *Mol. Genet. Metab.* 74 (2001) 64–74.

- Thorpe-Beeston JG, Nicolaidis KH, Felton CV, et al. Maturation of the secretion of thyroid hormone and thyroid-stimulating hormone in the fetus. *N Engl J Med* 1991; 324:532
- Trueba SS, Auge J, Mattei G, Etchevers M, Martonovic J, Czernichow P, et al. PAX 8, TITF1, and FOXE 1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis- associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 455-62.
- Tylek-Lemanska D, Kumorowicz-Kopiec M, Starzyk J. Screening for congenital hypothyroidism: the value of retesting after four weeks in neonates with low and very low birth weight. *J Med Screen* 2005;12:166–9.
- Unüvar T, Demir K, Abaci A, Büyükgebiz A, Böber E. The role of initial clinical and laboratory findings in infantas with hyperthyrotropinemia to predict transient or permanent hypothyroidism. *J. Clin Res Pediat Endocrinol.* 2013 Sep 10;5(3):170-3.
- Van den Hove MF, Beckers C, Devlieger H, et al: Hormone synthesis and storage in the thyroid of human preterm and term newborns: effect of thyroxine treatment. *Biochimie* 81:563-570, 1999
- Van Wassenaer AG, Kok JH, Dekker FW, de Vijlder JJM. Thyroid function in very preterm infants: influences of gestational age and disease. *Pediatr Res* 1997. 42:604–609
- Van Wassenaer AG, Briet JM, van Baar A, et al: Free thyroxine levels during the first weeks of life and neurodevelopmental outcome until the age of 5 years in very preterm infants. *Pediatrics* 110:534-539, 2002
- Van Wassenaer AG, Kok JH. Hypothyroxinaemia and thyroid function after preterm birth. *Semin Neonatol.* 2004 Feb;9(1):3-11
- Vicens-Calvet E, Clemente M, Carreño, A. Fisiopatología del hipotiroidismo congénito primario. *Endocrinología y nutrición.* Vol. 52. Núm. 08. Octubre 2005
- Vigone MC, Caiulo S, Di Frenna M, Ghirardello S, Corbetta C, Mosca F, Weber G. Evolution of Thyroid Function in Preterm Infants Detected by Screening for Congenital Hypothyroidism. *J Pediatr.* 2014 Feb 8. pii: S0022-3476(13)01594-1.

- Virtanen M, Mäenpää J, Pikkarainen J, Pitkänen L, Perheentupa J. Aetiology of congenital hypothyroidism in Finland. *Acta Paediatr Scand*. 1989 Jan;78(1):67-73.
- Vulsma T, Gons MH, de Vijlder JJ: Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med* 321:13-16, 1989
- WHO. National strategy for overcoming micronutrient malnutrition. Report to the Director General, 45th World Health Assembly. Geneva, World Health Organization, 1992 (WHA 45.33).
- WHO, UNICEF. Low birthweight: country, regional and global estimates. Geneva, UNICEF and WHO, 2004.
- WHO/UNICEF. Reaching optimal iodine nutrition in pregnant and lactating women and young children. Joint statement of the World Health Organization and the United Nations Children's Fund. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007.
- WHO, March of Dimes, PMNCH, Save the Children. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth. Eds CP Howson, MV Kinney, JE Lawn. World Health Organization. Geneva, 2012.
- Williams FL, Simpson J, Delahunty C, et al. Developmental trends in cord and postpartum serum thyroid hormones in preterm infants. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5314.
- Wolff J, Chaikoff IL. The relation of thyroxine to total iodine in the thyroid gland. *Endocrinology*. 1947 Oct;41(4):295-8.
- Woo HC, Lizarda A, Tucker R, et al. Congenital hypothyroidism with a delayed thyroid-stimulating hormone elevation in very premature infants: incidence and growth and developmental outcomes. *J Pediatr* 2011; 158:538.
- Wu SY, Klein AH, Chopra IJ, et al: Alterations in tissue thyroxine 5' monodeiodinating activity in the perinatal period. *Endocrinology* 103:235-239, 1978
- Zhu L, Zhang X, He X, Yang X, Wang Y, Wang C, Feng Z. Reference intervals for serum thyroid hormones in preterm hospitalized infants. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013;26(5-6):463-7

-Zurakowski D, Di Canzio J, Majzoub JA. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin, and free thyroxine. Clin Chem 1999. Jul; 45(7): 1087-91.

