



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MECANISMOS MOLECULARES IMPLICADOS EN LA DISHORMONOGÉNESIS TIROIDEA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA

Laura Soler Colomer

Directores

Dr. Diego Yeste Fernández

Dra. Mónica Fernández Cancio

ESTUDI DE DOCTORAT EN PEDIATRIA, OBSTETRÍCIA I GINECOLOGIA

Departament de Pediatria, Obstetrícia i Ginecologia, Salut Pública i Medicina Preventiva de la
Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2020

Don **Diego Yeste Fernández**, Profesor titular de Pediatría de la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, Médico Adjunto de la Unidad de Endocrinología Pediátrica del Hospital Universitari Vall d'Hebron y

Doña **Mónica Fernández Cancio**, Doctora en Bioquímica y Biología Molecular, Investigadora postdoctoral CIBERER, Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)

CERTIFICAN

Que Laura Soler Colomer, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universitat de Barcelona ha realizado bajo su dirección la presente Tesis Doctoral, titulada **“Identificación y caracterización de mecanismos moleculares implicados en la dishormonogénesis tiroidea mediante la aplicación de técnicas de secuenciación masiva”**. El mencionado trabajo se encuentra en condiciones de ser presentado como Tesis doctoral para otorgar el grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Barcelona, 10 de mayo de 2020

Directores:

Fdo. Diego Yeste Fernández

Mónica Fernández Cancio

Doctoranda

Fdo: Laura Soler Colomer

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Diego Yeste (director y tutor), por confiar en mí y por animarme a emprender este proyecto. Por estar siempre disponible, transmitiéndome constantemente fuerza y optimismo. Porque su manera de hacer y su tenacidad me han ayudado a recorrer el trayecto con más brío. Por sus correcciones y críticas, siempre fundamentadas en su rigor metodológico y su elegancia científica. Por impulsarme a explorar en el intrincado laberinto de la biosíntesis de las hormonas tiroideas, y por animarme a seguir desenmarañando su trama. Gracias por enseñarme tanto.

A la Dra. Mónica Fernández (codirectora), por su inestimable ayuda y por hacer que el terreno de la genética haya sido más llano. Por tenderme su mano en todo momento con los conceptos del campo de la biología molecular, resolviendo mis dudas siempre con buena disposición y claridad. Por sus consejos lingüísticos y esmeradas correcciones. Por compartir en nuestras reuniones, entre genes y proteínas, su energía y buen humor. Gracias por enseñarme que la biología y la clínica cada vez están más cerca.

A todo el equipo médico del Servicio de Endocrinología Pediátrica (Dra. María Clemente, Dra. Ariadna Campos, Dra. Anna Fábregas y Dr. Eduard Mogas), por formar parte del elenco principal de este trabajo, desempeñando un papel esencial en la inclusión de los pacientes y en el exquisito seguimiento clínico de todos y cada uno de ellos. Sin su profesionalidad este trabajo no habría sido posible. Gracias por vuestro apoyo y cariño.

A la Dra. María Antolín, por realizar los estudios de genética molecular y por su preciada colaboración y ayuda en relación a la interpretación de los resultados y a la Dra. Elena García Arumí, por su soporte institucional y colaboración también en la interpretación de los resultados.

A la Dra. Nadya Jaimes, por su participación en la selección e inclusión de los pacientes de este estudio.

A la Dra. Núria Camats y a Noelia Baz Redón, por su disposición y amabilidad a la hora de resolver dudas relacionadas con la biología molecular.

A Santiago Pérez-Hoyos y Miriam Mota (Unidad de Estadística y Bioinformática del Institut de Recerca Vall d'Hebron) por el soporte y análisis estadístico.

Al Dr. José Luis Marín y a la Dra. Rosa María López, por su colaboración con los resultados de las muestras del cribado neonatal.

A la Dra. Roser Ferrer, por su colaboración con la metodología y el análisis de las hormonas tiroideas.

A todos los compañeros y amigos que, de una forma u otra, han contribuido a la realización de este trabajo.

A toda mi familia, por su apoyo incondicional durante todo el camino.

En especial a Jose, por acompañarme en este largo viaje, por estar siempre a mi lado y por darme interminables muestras de ánimo, fuerza y cariño. Gràcies.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
1. Hipotiroidismo congénito primario	2
1.1. Definición y clasificación	2
1.2. Etiología	3
1.2.1. Hipotiroidismo congénito primario permanente	3
1.2.1.1. Dishormonogénesis tiroidea	3
1.2.1.1.a. Defectos de respuesta o insensibilidad a la TSH	3
1.2.1.1.b. Defectos en la captación y transporte de yodo	4
1.2.1.1.c. Defectos de organificación del yodo	4
1.2.1.1.d. Defectos en la síntesis de tiroglobulina	5
1.2.1.1.e. Defectos en el reciclado del yodo o desyodación de yodotirosinas	5
1.2.1.1.f. Defectos en el transporte del yodo	5
1.2.1.1.g. Defectos de factores de transcripción tiroideos	6
1.2.1.2. Disgenesia tiroidea	6
1.2.2. Hipotiroidismo congénito primario transitorio	7
1.2.2.1. Anticuerpos bloqueantes del receptor de la TSH	7
1.2.2.2. Déficit o exceso de yodo	7
1.2.2.3. Fármacos antitiroideos maternos	8
1.2.2.4. Mutaciones en <i>DUOX2/DUOXA2</i>	8
1.3. Cribado neonatal del hipotiroidismo congénito	9
1.3.1. Estrategias de cribado	10
1.3.1.1. Determinación primaria de TSH	10
1.3.1.2. Determinación primaria de T4	11
1.3.1.3. Determinación conjunta de TSH y T4	11
1.3.2. Cribado en situaciones especiales: prematuros y neonatos de bajo peso	12
1.3.3. Recogida de la muestra	13
1.3.4. Protocolo del diagnóstico precoz en Cataluña	14
1.4. Diagnóstico, tratamiento y reevaluación de hipotiroidismo congénito primario	15
1.4.1. Diagnóstico	15
1.4.1.1. Anamnesis	15
1.4.1.2. Exploración física	16
1.4.1.3. Exámenes de laboratorio	17
1.4.1.4. Estudios de imagen	19
1.4.2. Tratamiento	24
1.4.3. Reevaluación diagnóstica	26
2. Biosíntesis de las hormonas tiroideas	28
2.1. Introducción	28
2.2. Transporte de yodo	29
2.2.1. Disponibilidad del yodo	29
2.2.2. Captación del yodo	30
2.2.2.1. NIS	30
2.2.2.2. KCN	33
2.2.3. Eflujo del yodo	33
2.2.3.1. Pendrina	33
2.2.3.2. CLC-5	34

2.2.3.3. ANO-1	35
2.3. Síntesis de tiroglobulina	37
2.4. Organificación del yodo	38
2.4.1. Sistema dual-oxidasa	39
2.4.1.1. DUOX1/DUOX2	39
2.4.2.1. DUOXA1/DUOXA2	41
2.4.2. Peroxidasa tiroidea	42
2.5. Formación de yodotirosinas y reacción de acoplamiento	44
2.6. Reciclaje del yodo	46
2.6.1. DHEAL1	46
2.7. Liberación y transporte de las hormonas activas	47
2.7.1. Secreción de las yodotirosinas T3 y T4	47
2.7.2. MCT-8	48
2.8. Regulación de la biosíntesis de las hormonas tiroideas	50
2.8.1. Receptor de la TSH	50
2.8.2. Factores de transcripción tiroideos	51
2.8.2.1. TITF-2 (FOXE1)	51
2.8.2.2. TITF-1 (NKX2-1)	52
2.8.2.3. PAX8	53
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	55
1.Hipótesis	56
2.Objetivos	57
PACIENTES Y MÉTODOS	59
1.Diseño del estudio	60
2.Sujetos del estudio	60
3.Procedimientos	61
3.1 .Evaluación clínica	61
3.1.1. Datos clínicos	61
3.1.1.1. Datos clínicos perinatales	61
3.1.1.2. Datos clínicos de seguimiento	62
3.1.2. Datos analíticos	62
3.1.3. Exploraciones de imagen	65
3.2. Evaluación genética	67
3.2.1. Datos genéticos evaluados	67
3.2.2. Metodología del análisis genético	67
4.Análisis estadístico	71
5.Consideraciones éticas	72
RESULTADOS	73
1.Características clínicas de los pacientes	74
1.1. Tamaño muestral y datos <i>perinatales</i>	74
1.1.1. Sexo y origen	74
1.1.2. Edad gestacional	75
1.1.3. Antropometría al nacimiento	75
1.1.4. Antecedentes familiares de hipotiroidismo	76

1.2. Datos clínicos en la primera visita	77
1.2.1. Edad a la primera visita	77
1.2.2. Niveles de TSH en el cribado neonatal y valores hormonales confirmatorios	78
1.2.3. Gammagrafía ^{99m} Tc y ecografía tiroideas	81
1.2.3.1. Relación entre los niveles hormonales confirmatorios y el resultado de la gammagrafía tiroidea	82
1.2.4. Tratamiento sustitutivo al diagnóstico	87
1.3. Reevaluación diagnóstica	88
1.3.1. Pacientes reevaluados y edad en la reevaluación	89
1.3.2. Niveles hormonales y diagnóstico definitivo en la reevaluación	90
1.3.3. Gammagrafía con ¹²³ I y test de descarga con perclorato	92
1.3.4. Reinicio del tratamiento tras la reevaluación	93
2. Diagnóstico genético	94
2.1. Pacientes portadores de variantes genéticas	94
2.2. Genes afectados	96
2.3. Descripción de las variantes genéticas	98
2.3.1. Variantes en el gen <i>TG</i>	101
2.3.2. Variantes en el gen <i>TPO</i>	102
2.3.3. Variantes en el gen <i>DUOX2</i>	102
2.3.4. Variantes en el gen <i>PAX8</i>	103
2.3.5. Variantes en el gen <i>TSHR</i>	104
2.3.6. Variantes en otros genes	104
2.4. Estudio de cosegregación familiar	104
3. Relación genotipo-fenotipo	105
3.1. Fenotipo clínico y presencia de variantes genéticas	105
3.1.1. Antropometría al nacimiento y antecedentes familiares de hipotiroidismo	106
3.1.2. Valores hormonales en la confirmación diagnóstica	107
3.1.3. Gammagrafía tiroidea en la confirmación diagnóstica	108
3.1.4. Grado de severidad al diagnóstico	110
3.1.5. Dosis de LT4 requeridas durante su evolución	113
3.1.6. Reevaluación diagnóstica	114
3.2. Fenotipo clínico según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo	116
3.2.1. Antropometría al nacimiento y antecedentes familiares de hipotiroidismo	116
3.2.2. Valores hormonales en la confirmación diagnóstica	117
3.2.3. Gammagrafía tiroidea en la confirmación diagnóstica	118
3.2.4. Grado de severidad al diagnóstico	119
3.2.5. Dosis de LT4 requeridas durante su evolución	122
3.2.6. Reevaluación diagnóstica	122
4. Factores predictivos para la evolución del hipotiroidismo	124
4.1. Niveles hormonales y gammagrafía al diagnóstico	124
4.2. Dosis de LT4 requeridas durante su evolución	127
4.2.1. Dosis de LT4 predictora del fenotipo permanente-transitorio	130
4.3. Presencia de variantes genéticas	132
5. Análisis descriptivo de cada grupo de pacientes según el resultado del estudio genético	134
5.1. Pacientes sin variantes	134
5.2. Pacientes con variantes en heterocigosis	137
5.3. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo	139
5.3.1. Pacientes con variantes en <i>TG</i>	139

5.3.2. Pacientes con variantes en <i>TPO</i>	142
5.3.3. Pacientes con variantes en <i>DUOX2</i>	144
5.3.4. Pacientes con variantes en <i>PAX8</i>	146
5.3.5. Pacientes con variantes en <i>TSHR</i>	148
6.Casos falsos positivos (hipertirotropinemias neonatales)	149
<hr/>	
DISCUSIÓN	155
<hr/>	
1.Características clínicas de los pacientes	156
1.1.Sexo	156
1.2.Edad gestacional y antropometría al nacimiento	156
1.3.Antecedentes familiares de hipotiroidismo	158
1.4.Edad a la primera visita	159
1.5.Niveles de TSH en el cribado neonatal y valores hormonales confirmatorios	160
1.6.Gammagrafía ^{99m} Tc y ecografía tiroideas	162
1.7.Relación entre la evolución clínica de los pacientes y el resultado de la gammagrafía tiroidea al diagnóstico	164
1.8.Tratamiento sustitutivo al diagnóstico	166
2.Relación fenotipo-genotipo	167
2.1.Pacientes sin variantes genéticas	167
2.2.Pacientes con variantes en <i>TG</i>	170
2.3.Pacientes con variantes en <i>TPO</i>	177
2.4.Pacientes con variantes en <i>DUOX2</i> y <i>DUOXA2</i>	181
2.5.Pacientes con variantes en <i>PAX8</i>	185
2.6.Pacientes con variantes en <i>TSHR</i>	188
3.Reevaluación diagnóstica	191
4.Factores predictivos de la evolución del hipotiroidismo	193
5.Casos falsos positivos	195
<hr/>	
CONCLUSIONES	197
<hr/>	
BIBLIOGRAFÍA	201
<hr/>	
ANEXOS	221
<hr/>	

LISTADO DE ABREVIATURAS

^{123}I	yodo 123
^{131}I	yodo 131
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	tecnecio 99m
AAP	Academia Americana de Pediatría
ACMG	American College of Medical Genetics
Ag	antígeno
cAMP	AMP cíclico
Cl^-	cloruro
DIT	diyodotirosina
DT	dishormonogénesis tiroidea
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)
ESPE	Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica
FT4	<i>free thyroxine</i> (tiroxina libre)
GIS	glándula <i>in situ</i>
H^+	hidrógeno
H_2O_2	peróxido de hidrógeno
HC	hipotiroidismo congénito
HCO_3^-	bicarbonato
I	yodo
I^-	yoduro
K^+	ión potasio
kDa	kilodaltons
LT4	levotiroxina sódica
MIT	monoyodotirosina
Na^+	ión sodio
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i> (secuenciación de segunda generación)
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (reacción en cadena de la polimerasa)
PI3K	fosfoinositol 3-quinasa
PKA	proteína quinasa A
PKC	proteína quinasa C
RNA	ácido ribonucleico
mRNA	ácido ribonucleico mensajero
T3	Triyodotironina
T4	Tiroxina
TBAb	<i>thyroid stimulating hormone receptor blocking antibodies</i> (anticuerpos bloqueadores del receptor de la tirotropina)
TBG	<i>thyroxine-binding globulin</i> (globulina fijadora de tiroxina)
Tg	Tiroglobulina
TgAb	<i>thyroglobulin antibody</i> (anticuerpos contra la tiroglobulina)
TPO	tiroperoxidasa tiroidea
TPOAb	<i>thyroid peroxidase antibody</i> (anticuerpos contra la tiroperoxidasa tiroidea)
TRH	<i>thyrotropin-releasing hormone</i> (hormona liberadora de tirotropina)
TSH	<i>thyroid-stimulating hormone</i> (hormona estimulante del tiroides o tirotropina)
TSI	<i>thyroid stimulating immunoglobulin</i> (inmunoglobulina estimulante del tiroides)
TSRH	<i>thyroid stimulating hormone receptor</i> (receptor de la hormona estimulante del tiroides)
WT	<i>wild type</i> (proteína salvaje)

INTRODUCCIÓN

1. HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO PRIMARIO

1.1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

El hipotiroidismo congénito (HC) se define como la deficiencia de hormonas tiroideas que se presenta en el nacimiento, que puede ser de causa central o primaria.

El HC primario o tiroideo es la causa más frecuente de HC. Este tipo de hipotiroidismo es debido a defectos en el desarrollo de la glándula (agenesia o disgenesia tiroidea) o bien a alteraciones en la biosíntesis de las hormonas tiroideas (dishormonogénesis tiroidea, DT). En la mayoría de los casos (80%), se detecta un defecto estructural en la glándula tiroidea (ectopia, hipoplasia o agenesia). En el 20% restante, se suele identificar una glándula tiroidea *in situ* (GIS) normal o aumentada de tamaño. Estos pacientes presentan un defecto genético en la biosíntesis de hormonas tiroideas, que habitualmente se transmite de forma autosómica recesiva¹.

El HC primario también se puede clasificar en permanente o transitorio. El HC permanente se refiere a aquel en el que la deficiencia hormonal requiere un tratamiento para toda la vida y el transitorio al que presenta una deficiencia hormonal temporal, que se descubre al nacimiento, pero que se recupera a un estado eutiroideo, normalmente en los primeros meses o años de vida².

La Unidad de Endocrinología Pediátrica del Hospital Materno Infantil Vall d'Hebron de Barcelona (HUVH) es el centro de referencia para la confirmación del diagnóstico y el tratamiento del HC en Cataluña. La prevalencia del HC según datos del Programa de Cribado de HC de la Generalitat de Cataluña es de un caso por cada 2127 recién nacidos, con un total de 159 casos (97 niñas y 62 niños) registrados en los últimos 5 años. El 84.3% de los casos son hipotiroidismos permanentes y el resto, transitorios. En referencia a los hipotiroidismos permanentes, las disgenesias tiroideas representan el 52.2% de los casos y las dishormonogénesis, el 32.1% restante. Los cambios metodológicos en la dosificación de la TSH y la reducción de sus puntos de corte acontecidos en los últimos años parecen justificar el incremento observado en la prevalencia del HC y en particular de las DT³.

1.2. ETIOLOGÍA

En este apartado se describirán las distintas etiologías causantes de HC primario, diferenciando según si este es permanente o transitorio.

1.2.1. HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO PRIMARIO PERMANENTE

En este apartado se describirán las distintas etiologías del HC primario de carácter permanente.

1.2.1.1. DISHORMONOGENESIS TIROIDEA

La DT es un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias que se producen a consecuencia del bloqueo total o parcial de cualquiera de los procesos bioquímicos implicados en la síntesis y secreción de las hormonas tiroideas. La DT es la causante de un 10-15% del HC permanente y se transmite, en general, de forma autosómica recesiva. Esta condición genera HC con bocio, aunque este pocas veces se detecta en el diagnóstico del recién nacido². Como se ha mencionado anteriormente, en nuestro centro, la incidencia de la DT en el HC permanente es el doble (32.1%) de la que se describe en la literatura.

El conocimiento cada vez más preciso de los procesos y actividades enzimáticas que intervienen en la síntesis de las hormonas tiroideas ha permitido identificar un buen número de factores de transcripción y de proteínas específicamente implicados en la regulación de la hormonogénesis tiroidea y que, hasta la actualidad, se concretan en los siguientes: a) defectos de respuesta o insensibilidad a la TSH (genes *TSHR* y *GNAS*); b) defectos en la captación y transporte de yodo (gen *NIS/SLC5A5*); c) defectos de organificación del yodo (genes *TPO*, *DUOX2* y *DUOX2*); d) defectos en la síntesis de tiroglobulina (genes *TG* y *TTF1/NKX2-1*); e) defectos en el reciclado del yodo o desyodación de yodotirosinas (gen *IYD/DEHAL1*); f) defectos en el transporte de yodo (Síndrome de Pendred) (genes *PDS/SLC26A4* y, posiblemente, *ANO-1*) y g) defectos de factores de transcripción tiroideos (genes *TTF1/NKX2-1*, *TTF2/FOXE1*, *NKX2-5* y *PAX8*).

1.2.1.1.a. Defectos de respuesta o insensibilidad a la TSH

Pueden ser secundarios tanto a mutaciones en el gen del receptor a esta hormona (*TSHR*, OMIM:603372) como a alteraciones en su vía de señalización, es decir, a defectos en la proteína

Gs α acoplada a este receptor (gen *GNAS*, OMIM:139320). Estas alteraciones determinan desde situaciones de hipertirotrópinemia asintomática hasta hipoplasia de la glándula tiroidea^{4,5}.

Las mutaciones con pérdida de función o inactivadoras homocigotas o heterocigotas compuestas del gen *TSHR* causan resistencia a la TSH, se heredan de forma autosómica recesiva y se asocian con 3 fenotipos distintos: resistencia a la TSH totalmente compensada, resistencia a la TSH parcialmente compensada y resistencia severa no compensada⁶.

El gen que codifica el TSHR solo se expresa durante el desarrollo tardío del feto, motivo por el cual, las mutaciones inactivadoras pueden causar hipoplasia, pero no ectopia ni agenesia de la glándula¹. También se han reportado elevaciones leves de los niveles de TSH en individuos que son heterocigotos para mutaciones inactivadoras del *TSHR*. Estos pacientes presentan el mismo fenotipo clínico que aquellos que son homocigotos o heterocigotos compuestos. La mayoría de ellos presentan tejido glandular eutópico de tamaño normal. En familias con hipotiroidismo subclínico no autoinmune de probable herencia autosómica dominante, se debería considerar este diagnóstico⁷.

1.2.1.1.b. Defectos en la captación y transporte de yodo

Se producen por mutaciones del gen *NIS/SLC5A5* (OMIM:601843) que codifica una proteína simportadora de sodio y yodo localizada a nivel de la membrana basal del tirocito. Los neonatos con defectos en este gen presentan hipotiroidismo asociado a una disminución en la captación glandular de radioyodo. Estos pacientes pueden presentar bocio difuso o nodular, aunque, en la mayoría de los casos, la glándula es de tamaño normal y el bocio es de aparición más tardía⁸.

1.2.1.1.c. Defectos de organificación del yodo

En este grupo se incluyen las alteraciones de la yodación de la tiroglobulina (Tg), que pueden ser debidas tanto a defectos en la enzima tiroperoxidasa (gen *TPO*, OMIM:606765), catalizadora de la oxidación del yodo intrafolicular (organificación) y del acoplamiento de MIT y DIT para formar T3 y T4, como a alteraciones en el sistema de generación de H₂O₂. Se han identificado dos oxidasas (gen *DUOX1*, OMIM:606758 y gen *DUOX2*, OMIM:606759), aunque solamente DUOX2 y el factor de maduración de DUOX2 (gen *DUOXA2*, OMIM:612772) se han identificado como factores causales de alteraciones en la yodación en algunos pacientes. Los defectos pueden ser totales o parciales.

En pacientes con hipotiroidismo transitorio y con descargas parciales en el test de perclorato se han descrito mutaciones en heterocigosis en *DUOX2*⁹⁻¹⁴.

1.2.1.1.d. Defectos en la síntesis de tiroglobulina

La Tg es producida por el tirocito y secretada hacia el coloide folicular. Además de su función de soporte o matriz para la síntesis de hormonas tiroideas, la Tg es el principal reservorio de hormonas tiroideas y yodo del organismo. Los defectos en la síntesis de Tg están determinados por deleciones o mutaciones del gen *TG* (OMIM:188450) o por expresión reducida del factor de transcripción TTF1, e implican tanto problemas de cantidad como de calidad de su síntesis. Las manifestaciones clínicas son muy amplias y varían desde el HC a bocios eutiroideos que se pueden manifestar en la edad adulta^{15,16}.

1.2.1.1.e. Defectos en el reciclado del yodo o desyodación de yodotirosinas

Están causados por las alteraciones de la dehalogenasa tiroidea (gen *IYD* o *DEHAL1*; OMIM:612025), enzima que desyoda los productos yodados intermedios que se producen tras la síntesis de Tg, las mono- y di- yodotirosinas (MIT y DIT), lo cual permite que el yodo liberado pueda ser reutilizado para un nuevo ciclo de síntesis hormonal. Clínicamente, los pacientes con alteraciones en el gen *IYD* o *DEHAL1* pueden presentar hipotiroidismo severo, retraso mental, bocio y concentraciones circulantes elevadas de TSH y de yodotirosinas, con la aparición de estas últimas en orina. Sin embargo, estos defectos pueden escapar al cribado neonatal del HC^{17,18}.

1.2.1.1.f. Defectos en el transporte del yodo

La transferencia del yoduro en la membrana apical del tirocito está mediada al menos parcialmente por un transportador dependiente de cloro. El gen *PDS/SLC26A4* (OMIM:605646) codifica esta proteína transportadora, denominada pendrina. Los defectos en el transporte de yodo o Síndrome de Pendred se caracterizan por sordera neurosensorial y bocio. Recientemente, se ha identificado un nuevo transportador de yodo a este nivel, denominado anoctamina-1 (gen *ANO-1*; OMIM:610108), que parece mediar el transporte del yodo de manera independiente a la pendrina^{19,20}.

1.2.1.1.g. Defectos de factores de transcripción tiroideos

Los factores de transcripción específicos del tiroides, conocidos como TTF1/NKX2-1 (OMIM: 600635), TTF2/ FOXE1 (OMIM: 602617), NKX2-5 OMIM: 600584 y PAX8 (OMIM: 167415) se han relacionado con alteraciones disgenéticas de la glándula y/o con defectos de transcripción tiroideos. Estas proteínas nucleares no participan directamente en los procesos de síntesis hormonal de la célula tiroidea, pero reconocen lugares de unión en los promotores de los principales genes tiroideos (*TG*, *TPO*, *TSHR* y *NIS/SLC5A5*) facilitando la transcripción de estos²¹.

1.2.1.2. DISGENESIA TIROIDEA

La disgenesia tiroidea representa alrededor del 80% de los casos de HC primario¹ y, según los datos de nuestro centro, representa más de la mitad de los casos de HC permanente.

La ectopia tiroidea se refiere a una glándula que se encuentra en una localización anómala. Esta condición representa dos tercios del HC disgenético. El otro tercio restante corresponde a hipoplasias y agencias tiroideas².

La incidencia de disgenesia tiroidea familiar no es habitual, por lo que siempre se ha considerado una enfermedad esporádica debida a causas no genéticas como factores ambientales o eventos fortuitos durante la embriogénesis²².

Sin embargo, el conocimiento cada vez mayor del HC ha revelado que las causas genéticas no se detectan solamente en los pacientes afectos de DT, sino también en pacientes con defectos del desarrollo glandular, si bien las bases moleculares de este trastorno son todavía poco conocidas. Se han detectado pocos casos familiares de disgenesia tiroidea y se ha reportado discordancia hasta en gemelos monocigotos¹.

Aunque la frecuencia de mutaciones genéticas en los pacientes afectos de disgenesia tiroidea es baja (aproximadamente un 2%), se han implicado diversos genes en esta patología. Estos incluyen los genes *PAX8*, *TITF-2 (FOXE1)*, *TITF-1 (NKX2-1)* y *NKX2-5*. Estos genes codifican para factores de transcripción que se expresan durante la embriogénesis y que, además, participan en el funcionalismo de la glándula madura. Estos factores de transcripción también se expresan en otros órganos durante la embriogénesis, como por ejemplo el riñón y el pulmón, motivo por el que, algunas mutaciones en estos genes, causan fenotipos sindrómicos que se asocian a su expresión tisular (**Tabla 1**). Cabe destacar que, aunque *PAX8* se expresa en el sistema renal, las mutaciones

de este gen que causan disgenesia tiroidea e HC con glándula en situación eutópica no suelen ir acompañadas de otras anomalías congénitas².

GEN MUTADO	CLÍNICA ASOCIADA
<i>TITF-2</i>	Disgenesia tiroidea, atresia de coanas, fisura palatina, pelo de punta
<i>TITF-1</i>	HC, distrés respiratorio, ataxia, corea benigna
<i>NKX2-5</i>	HC, malformaciones cardíacas
<i>PAX8</i>	Disgenesia tiroidea, malformaciones renales y ureterales

Tabla 1. Genes implicados en disgenesia tiroidea y clínica asociada. Extraído de ².

1.2.2. HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO PRIMARIO TRANSITORIO

En este apartado se describirán las distintas etiologías del HC primario de carácter transitorio.

1.2.2.1. ANTICUERPOS BLOQUEANTES DEL TSHR

El HC causado por anticuerpos bloqueantes del TSHR representa aproximadamente un 1-2% del total de recién nacidos diagnosticados de HC²³.

Estos anticuerpos se desarrollan en el contexto de enfermedad autoinmune materna, como la enfermedad de Graves o la tiroiditis linfocitaria crónica. Son anticuerpos de clase IgG que se dirigen contra el receptor de la TSH de las células foliculares, bloqueando su acción. Provocan hipotiroidismo en el feto y en el recién nacido por paso transplacentario, bloqueando el acceso de la TSH a sus receptores. El hipotiroidismo en el recién nacido se resuelve cuando los anticuerpos maternos desaparecen de su sistema circulatorio, hecho que suele suceder entre los 3 y 6 primeros meses de vida²⁴.

1.2.2.2. DEFICIENCIA O EXCESO DE YODO

A escala global, la deficiencia de yodo es la causa más común de HC transitorio, particularmente en recién nacidos prematuros. Estos niños están expuestos a un riesgo más elevado, ya que sufren privación de los suplementos de yodo maternos de forma prematura, hecho que causa un acúmulo insuficiente de yodo en la glándula tiroidea, elemento indispensable para la síntesis

hormonal. Existe una variación altamente significativa en la deficiencia de yodo entre países e incluso dentro de un mismo país²⁴. En la declaración de Cracovia sobre el yodo del 2018 se menciona que en Europa la deficiencia de yodo durante la gestación y la lactancia es frecuente. Además, los autores estiman que alrededor del 50% de los recién nacidos en nuestro continente están expuestos a deficiencia de yodo, con los defectos neurocognitivos que esto conlleva²⁵.

El efecto Wolff-Chaikoff, inducido por el exceso de yodo, es una inhibición transitoria de la síntesis de T4. Este efecto dura aproximadamente 10 días y, posteriormente se reinicia la hormonogénesis con la recuperación de la organificación del yodo²⁴. Tanto el feto como el recién nacido son muy sensibles a este efecto inhibitor sobre la hormonogénesis que se produce cuando hay un exceso de yodo, ya sea administrado a la madre durante la gestación o la lactancia o directamente sobre el bebé. Esto se produce porque el sistema de escape del efecto inhibitor del yodo no madura antes de las 36 semanas de gestación. Algunas de las fuentes de yodo que pueden provocar este efecto incluyen fármacos (amiodarona, yoduro potásico), radiocontraste yodado y soluciones antisépticas (povidona yodada) utilizadas para el lavado de la piel⁶.

1.2.2.3. FÁRMACOS ANTITIROIDEOS MATERNOS

Los fármacos utilizados para el tratamiento de la enfermedad de Graves (metimazol y propiltiouracilo), atraviesan la barrera placentaria e inhiben la producción hormonal del feto. Estos efectos suelen mantenerse hasta 2-3 semanas después del nacimiento, momento en el que dichas drogas se eliminan de la circulación sanguínea del recién nacido. El hipotiroidismo del recién nacido se resuelve de forma espontánea y no suele requerir tratamiento, a no ser que sea severo⁶.

1.2.2.4. MUTACIONES EN *DUOX2/DUOX2*

El fenotipo clínico de los pacientes afectados de HC primario con mutaciones en los genes *DUOX2/DUOX2* puede ser muy variable. Estos pacientes tienen una glándula tiroidea de tamaño grande o normal y que se encuentra normosituada. A nivel funcional, presentan grados variables de hipotiroidismo primario, que puede ser permanente o transitorio²⁶.

El hipotiroidismo generado por las mutaciones bialélicas y monoalélicas en este gen, se produce por una producción insuficiente de H₂O₂ y el subsiguiente déficit de secreción de hormonas tiroideas²⁶. Las mutaciones bialélicas inactivadoras del sistema *DUOX2* se consideran las causantes de las formas graves y permanentes de HC, mientras que las monoalélicas, se asocian a un hipotiroidismo más leve y de carácter transitorio¹⁰. Sin embargo, se ha demostrado que las

mutaciones bialélicas también pueden presentarse como un hipotiroidismo de carácter transitorio²⁷.

La variabilidad clínica en estos pacientes se podría explicar por otros mecanismos secundarios, como por mutaciones en genes reguladores, por mutaciones coexistentes en otros genes, por factores nutricionales y ambientales o por otros factores epigenéticos²⁶.

1.3. CRIBADO NEONATAL DEL HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO

El primer programa de cribado neonatal para el HC se desarrolló en Canadá en el año 1973 y, desde entonces, ha sido la prueba *gold standard* para diagnosticar de manera precoz el HC y, de esta manera, reducir significativamente las secuelas neurológicas derivadas de esta patología.

De acuerdo a los criterios de la OMS sobre el cribado de enfermedades en el periodo neonatal, la prioridad del cribado neonatal del HC es detectar el hipotiroidismo primario e iniciar el tratamiento sustitutivo con hormonas tiroideas lo antes posible. El objetivo del programa no es solo el HC severo y permanente (objetivo principal), sino también el HC en sus formas moderadas permanentes o transitorias (objetivos secundarios) ya que estas también se benefician de un diagnóstico y tratamiento precoz²⁸.

Antes de la llegada de los programas de cribado neonatal, el HC se diagnosticaba de manera tardía y a través de la clínica. La incidencia de la enfermedad previa a la aplicación del cribado neonatal oscilaba entre 1:7000-1:10 000, aumentando hasta 1:3000-1:4000 tras su instauración².

Existen dos métodos distintos para el cribado neonatal del HC dependiendo de qué determinación se realice en primer lugar. En el primero, se determina la TSH de manera aislada y en el segundo la T4. Además, cada vez más programas de cribado utilizan un método combinado de determinación primaria conjunta de TSH y T4. Este último método combinado es el que se considera ideal según la AAP (Academia Americana de Pediatría, www.aap.org)²⁹.

La estrategia utilizada en España es la determinación primaria de TSH. Este método es el que se considera más sensible para la detección del HC primario según la ESPE (Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica, www.eurospe.org)³⁰.

1.3.1. ESTRATEGIAS DE CRIBADO

1.3.1.1. DETERMINACIÓN PRIMARIA DE TSH

La determinación primaria de TSH es el test más sensible para la detección del HC primario y debería considerarse la determinación bioquímica más importante en cualquier programa de cribado³⁰.

Con esta estrategia se detectan la mayor parte de los casos de HC primario, sin embargo, se pueden infradiagnosticar otras anomalías como el HC central (secundario o terciario), la hipotiroxinemia, la deficiencia de *thyroxine-binding globulin* (TBG) y la elevación tardía de TSH que se presenta en los niños prematuros³¹.

Muchos programas de cribado han empezado a reevaluar su estrategia y algunos han modificado su abordaje diagnóstico en base a decidir si su objetivo es detectar casos sólo de HC primario o bien casos de HC primario y otros trastornos tiroideos. La mayoría de programas de cribado de Norteamérica, Europa y Australia han cambiado su estrategia, pasando de la determinación primaria de tiroxina libre (FT4) a la determinación primaria de TSH. Este hecho se debe, en parte, a que el objetivo más importante del cribado neonatal es detectar a niños con HC primario³².

Los puntos de corte para la TSH en los distintos programas de cribado del HC alrededor del mundo varían de 5 a 20 mUI/L. La definición de estos valores está basada en el análisis conjunto de variables como el protocolo de cribado (TSH, FT4 o ambas), el tipo de muestra recogida (sangre de cordón, sangre de talón), la edad de recogida de la muestra (< 48 o > 48 horas de vida), así como también las características regionales (p. ej. déficit de yodo)³¹.

Las técnicas de laboratorio actuales, entre las cuales se incluyen el inmunoensayo enzimático (ELISA), la quimioluminiscencia y el fluoroinmunoensayo, han mejorado notablemente su sensibilidad en los últimos años y han adquirido el potencial para una mejor diferenciación entre los valores normales y anormales de TSH. Como consecuencia directa de este avance en los métodos analíticos, se ha recomendado situar en valores más bajos el límite superior del rango de normalidad de la TSH²⁹.

Con la aplicación de esta medida, se ha reportado un incremento en la incidencia del HC³⁰. Se ha demostrado que reduciendo los puntos de corte de 20 mUI/L a 10 mUI/L se incrementa significativamente la detección de casos de HC primario leve. Además, la mayoría de estos casos corresponden a HC permanente, hecho que indica que un valor de entre 10-20 mUI/L en el cribado no es necesariamente predictor de un HC transitorio. El estudio etiológico de estos casos de HC leve demuestra que en su amplia mayoría (alrededor del 70-80%) corresponden a defectos funcionales

(dishormonogénesis) con glándula *in situ*^{33,34}. Asimismo, la ectopia y la hipoplasia tiroidea ortotópica pueden presentarse con fenotipos heterogéneos, incluyendo formas de incremento leve de TSH al nacimiento³⁵.

Con la determinación primaria de TSH, la necesidad de repetir la prueba es baja, pues la tasa de segundos avisos con el fin de recoger una segunda muestra es aproximadamente del 0.05%, lo que viene a suponer que por cada caso detectado serán avisados por segunda vez 2 niños²⁹.

1.3.1.2. DETERMINACIÓN PRIMARIA DE T4

Este método consiste en analizar los niveles de T4 con medición adicional de niveles de TSH en los casos con baja concentración de T4.

Con esta estrategia, además de detectar hipotiroidismo primario, se pueden detectar otras patologías mucho menos frecuentes que ésta, como son el déficit de TBG y el hipotiroidismo central, la incidencia de las cuales oscila alrededor de 1:5000-10 00 y 1:50 000 respectivamente²⁹.

Sin embargo, la detección del HC central con este método genera un alto número de falsos positivos, debidos al déficit de TBG y al déficit transitorio de T4 en los recién nacidos críticos³⁶.

En un estudio realizado en Holanda, se añadió la determinación de TBG en las muestras con valores de T4 por debajo de 1.6 desviaciones estándar (DE). La ratio T4/TBG se utilizó como medida indirecta de la concentración de FT4. La medición de TBG, añadida a la determinación de T4 en los casos indicados, reveló una incidencia de HC central de 1:16 404, bastante más elevada que la reportada con anterioridad, concluyendo también, que esta técnica resultaba económica y efectiva para la detección del HC^{37,38}.

La medición de FT4 mediante inmunoensayo enzimático se puede considerar equivalente a la ratio T4/TBG³⁹.

1.3.1.3. DETERMINACIÓN CONJUNTA DE TSH Y T4

Este método se basa en la determinación conjunta de TSH y T4 al mismo tiempo en la misma muestra de sangre de talón.

Aunque no es el objetivo primario del cribado neonatal, con esta estrategia se detecta el HC central (secundario o terciario). El HC central no se puede cribar con el análisis de la TSH aislada, ya que

este se presenta con niveles de TSH disminuidos, inapropiadamente normales o incluso ligeramente elevados (elevación TSH inmunoreactiva con bioactividad baja)⁴⁰.

En un estudio en el que se añadió la determinación de T4 a la TSH, se observó una incidencia de HC central de 1:22 573. Además, los 3 casos detectados de HC central en el estudio, estaban afectos de deficiencia combinada de hormonas pituitarias, entidad considerada potencialmente grave y de diagnóstico tardío. Los autores concluyen que, aunque las secuelas pueden ser menos graves que en el HC primario, la detección precoz del HC central permite detectar y tratar otras deficiencias hormonales con comorbilidad asociada y, aunque faltan estudios de costo-efectividad, recomiendan la inclusión de la estrategia combinada en los programas de cribado⁴¹.

Se ha demostrado la utilidad de la determinación conjunta de TSH y T4 para identificar casos de HC central transitorio, como puede ocurrir en casos de madres con situación hipertiroidea durante el embarazo y casos de HC primario con elevación tardía de la TSH, como ocurre en prematuros o neonatos con muy bajo peso al nacer. Un estudio realizado en Japón demostró la efectividad de medir simultáneamente FT4 y TSH para la detección de dichas entidades y recomienda incluir esta estrategia si estas se consideran objetivos del cribado neonatal del HC⁴².

1.3.2. CRIBADO EN SITUACIONES ESPECIALES: PREMATUROS Y NEONATOS DE BAJO PESO

En los neonatos prematuros y con bajo peso, la función tiroidea está a menudo alterada. Es bien conocido que, en los prematuros, la función del eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo está atenuada en el periodo postnatal por un tiempo desconocido. Estos neonatos presentan una producción disminuida de hormona liberadora de tirotrópina (TRH), una respuesta inmadura de la glándula tiroidea a la TSH, una capacidad deficiente de las células foliculares tiroideas para organificar el yodo y una baja capacidad para convertir T4 a T3 activa⁴³.

Algunos niños con bajo o muy bajo peso al nacer, así como neonatos críticamente enfermos, presentan HC caracterizado por FT4 baja y elevación tardía de TSH⁴⁴. La incidencia de dicha entidad en los niños con bajo peso al nacer es de alrededor de 1:400, siendo de 1:75 000 en los niños con normopeso⁴⁵.

Es por esto que se debe considerar extraer una segunda muestra para cribado en los siguientes grupos de riesgo: niños prematuros, niños con bajo o muy bajo peso por la edad gestacional, neonatos críticos, neonatos en los que la recogida de muestra se haya efectuado en las primeras

24 horas y partos múltiples (especialmente gemelos monocigóticos). Esta segunda muestra se debe realizar a las 2 semanas de vida o bien 2 semanas después de la recogida de la primera³⁰.

Sin embargo, algunos autores no están de acuerdo con esta recomendación, argumentando que los neonatos diagnosticados de HC con elevación de TSH tardía que recibieron tratamiento sustitutivo, a los 18 meses de edad ya no requieren medicación. Con estos datos sugieren que la disfunción tiroidea en los niños con bajo o muy bajo peso podría ser leve o transitoria, hecho que obliga a plantear si realmente el recribado es necesario en este grupo de pacientes⁴⁶.

1.3.3. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La muestra debe ser recogida siempre antes de dar de alta al recién nacido, idealmente a partir de las 48 horas de vida, para evitar los falsos positivos por elevación fisiológica de la TSH en este periodo, y no más allá del cuarto día de vida, para no retrasar el inicio de tratamiento²⁹.

Para obtener la muestra se debe calentar el lugar de punción (superficie plantar del talón) y efectuar la punción en la parte externa del talón (no en la línea media) con una lanceta estéril con punta de aproximadamente 2 milímetros⁴⁷. La primera gota de sangre se debe desechar y dejar que se forme otra gota grande. Para recogerla, se debe acercar ligeramente el papel de filtro hasta que este entre en contacto con la sangre. No es recomendable dejar caer la gota de sangre sobre el papel sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de especímenes sobresaturados. Se debe empapar y rellenar completamente el círculo del papel de filtro y dejar secar en una superficie horizontal plana no absorbente, evitando que se contamine por otras sustancias⁴⁸.

La precisión en los resultados del cribado neonatal depende de la buena calidad de la muestra de sangre recogida. Realizar mal la técnica y tener que repetir la prueba, causa retrasos innecesarios en el diagnóstico y tratamiento de un niño afecto de HC²⁹.

El pediatra de atención primaria debe identificar a todos los recién nacidos que no han sido sometidos a las pruebas de cribado y realizarlas en el centro de salud antes de los 10-15 días de vida⁴⁷.

1.3.4. PROTOCOLO DEL DIAGNÓSTICO PRECOZ EN CATALUÑA

La muestra de sangre de talón recogida se envía al laboratorio de la Unidad de Cribado Neonatal del Hospital Clínic de Barcelona donde se procesa para determinar los valores de TSH. El programa de cribado del HC se inició en Cataluña en el año 1982 por el Dr. Enric Vicens. Al final del 2019 se han analizado un total de 2 411 090 muestras y se han efectuado un total de 1046 diagnósticos de HC, lo que establece una prevalencia de 1:2305.

Según el resultado obtenido en el cribado, se pueden dar tres posibles escenarios:

- Si los valores de TSH son superiores a 20 mU/L se considera como probable o posible caso positivo de HC primario. En este caso se comunica el resultado de manera urgente a la familia y se deriva a la Unidad de Endocrinología Pediátrica del HUVH de Barcelona, que es el centro de referencia para la confirmación del diagnóstico y del tratamiento del HC de nuestra Comunidad Autónoma. Dicha Unidad recibe al paciente en un plazo máximo de 24 horas y se realizan, de manera urgente, los estudios pertinentes para confirmar el diagnóstico e iniciar el tratamiento de manera precoz.

- Si los valores de TSH de la primera muestra se encuentran entre 10 y 20 mU/L se solicita una nueva muestra en papel para que el mismo laboratorio realice la revaloración. Si en esta segunda muestra los valores de TSH obtenidos son superiores a 20 mU/L se considera como probable o posible caso positivo de HC y se actúa de la misma manera que en la situación descrita en el punto anterior. Si el valor de la segunda muestra se encuentra de nuevo entre 10 y 20 mU/L, se remite también para confirmación diagnóstica.

- Si los valores de TSH resultan inferiores a 10 mU/L se considera como ausencia de enfermedad y no se realiza ninguna otra actuación.

1.4. DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO Y REEVALUACIÓN DEL HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO PRIMARIO

1.4.1. DIAGNÓSTICO

Una vez el paciente con sospecha de HC detectado en el cribado neonatal llega al centro de referencia, se debe iniciar de manera urgente el estudio diagnóstico, que tiene dos objetivos principales: a) establecer la confirmación diagnóstica y b) esclarecer la etiología del HC. Para ello, se deberá realizar una exhaustiva valoración clínica del paciente (anamnesis y exploración física) y efectuar exploraciones complementarias para orientar la causa subyacente del HC (exámenes de laboratorio y pruebas de imagen).

1.4.1.1. ANAMNESIS

En primer lugar, se debe realizar una anamnesis completa de los datos perinatales del neonato: tipo de parto, semanas de gestación, somatometría al nacer, lugar y fecha de nacimiento y uso de yodona yodada.

Es muy importante recoger en la historia clínica del neonato los antecedentes patológicos familiares, remarcando los de enfermedad tiroidea en familiares de primer grado, sobretodo en madre y hermanos.

Asimismo, hay que realizar una encuesta exhaustiva de los datos maternos por lo que al periodo gestacional se refiere, ya que existen diversas condiciones que pueden alterar el resultado del cribado neonatal o incluso dar lugar a un estado de HC transitorio. Es imprescindible recoger los datos que se especifican en la **Tabla 2**^{49,50}.

Antecedente de enfermedad tiroidea	Enfermedad de Graves Tiroiditis autoinmune Enfermedad tiroidea gestacional Titulación de anti-TPO en la gestación Titulación de anti-TSI en la gestación
Ingesta de fármacos durante la gestación	LT4 Propiltiouracilo Metimazol Suplementos de yodo
Otros problemas gestacionales	Diabetes gestacional Diabetes mellitus tipo 1 Obesidad Fecundación <i>in vitro</i>
Utilización de compuestos yodados	Jarabes yodados para la tos Desinfectantes yodados Suplementos nutricionales/vitamínicos

Tabla 2. Antecedentes maternos imprescindibles en la historia clínica del neonato. Extraído de ⁵¹.

1.4.1.2. EXPLORACIÓN FÍSICA

Los niños con HC detectado en el periodo neonatal presentan nulas o pocas manifestaciones clínicas. Aun así, se debe realizar una exploración física sistemática completa y se puede calcular, aunque es poco discriminativo, el índice clínico de Letarte *et al.*⁵¹, con el cual se considera sugestivo de hipotiroidismo una puntuación superior a 4 (**Tabla 3**).

En un estudio llevado a cabo en 1992, el 16% de los niños con hipotiroidismo grave no presentaron signos clínicos en el momento del diagnóstico. Se observó que los niños con concentración plasmática de tiroxina por debajo de 30 nmol/L fueron más propensos a presentar ictericia prolongada, dificultad en la alimentación, letargia, hernia umbilical y macroglosia. En el grupo con HC también fue mucho más común la gestación prolongada (>40 semanas de gestación), el parto inducido y el peso elevado al nacer (>3500 gr)⁵¹.

Otro aspecto importante a tener en cuenta es que el HC se asocia a un riesgo más elevado de malformaciones congénitas. En un estudio de 1420 pacientes con HC, las malformaciones congénitas extratiroideas tuvieron una prevalencia del 8.4%. De estas, la mayoría fueron cardíacas. Otras malformaciones que se pueden encontrar en estos pacientes son: cabello erizado, fisura

palatina y anomalías neurológicas y genitourinarias⁵². Como hemos mencionado anteriormente, estas manifestaciones pueden asociarse a fenotipos sindrómicos debidos a mutaciones en genes relacionados con disgenesia tiroidea.

Problemas de alimentación	1 punto
Estreñimiento	1 punto
Inactividad	1 punto
Hernia umbilical	1 punto
Macroglosia	1 punto
Piel moteada	1 punto
Piel seca	1.5 puntos
Fontanela posterior > 5 cm ²	1.5 puntos
Facies típica	3 puntos

Tabla 3. Índice clínico de Letarte. Extraído de ⁵¹.

1.4.1.3. EXÁMENES DE LABORATORIO

- Niveles séricos de TSH y FT4

Se deben analizar en una muestra de sangre venosa. Es importante comparar los valores séricos obtenidos con los rangos de referencia normales adecuados a la edad del paciente (**Tabla 4**), ya que existe una elevación fisiológica de la TSH durante los primeros días de vida. En la mayoría de los pacientes, las analíticas confirmatorias se obtienen alrededor de la primera o segunda semana de vida, cuando los niveles del límite superior de la TSH descienden hasta aproximadamente 10 mU/L².

Edad	FT4 (ng/dL)	TSH (mU/L)
1-4 días de vida	1.9-4.9	< 39
2-4 semanas de vida	0.7-2	< 10

Tabla 4. Rangos de referencia de FT4 y TSH en el recién nacido. Extraído de ².

La combinación de unos niveles elevados de TSH y unos niveles bajos de FT4 confirman el diagnóstico de HC primario. El hallazgo de unos niveles altos de TSH con niveles normales de FT4 sugieren un HC primario subclínico.

- Niveles séricos de Tg

La Tg es un marcador que se utiliza para valorar la presencia o ausencia de tejido tiroideo.

En los casos de agenesia tiroidea verdadera los niveles de Tg son indetectables; en las ectopias, son variables (normales o elevados) y, en las DT, varían en función del defecto.

Los niveles de esta hormona pueden ser útiles para orientar la etiología según los resultados obtenidos en la gammagrafía tiroidea con $^{99m}\text{Tc}^{53}$:

- Gammagrafía tiroidea con captación elevada
 - Tg baja/indetectable: defecto genético en el gen *TG*
 - Tg elevada: defecto genético en otros genes (el más frecuente, *TPO*)

- Gammagrafía tiroidea con ausencia de captación
 - Tg indetectable: agenesia verdadera
 - Tg normal/baja: agenesia aparente (anticuerpos bloqueadores del receptor de la tirotropina (TBAb), exceso agudo de yodo, inactivación bialélica del receptor de la TSH)
 - Tg elevada: defectos genéticos en transportadores de sodio/yodo

- Anticuerpos antitiroideos

La enfermedad tiroidea autoinmune durante el embarazo es relativamente frecuente; en algunas series se ha descrito aproximadamente en alrededor del 2.5% de las gestaciones⁵⁴.

La causa más frecuente de hipotiroidismo gestacional es la tiroiditis autoinmune, que se caracteriza por la presencia de anticuerpos antitiroideos específicos. Se ha reportado que aproximadamente un 5% de las mujeres en edad reproductiva son positivas bien para anticuerpos TgAb o bien para TPOAb⁵⁵.

Un estudio realizado por Dussault *et al.*, evidenció que no existía correlación entre la presencia de anticuerpos antimicrosomales (TPOAb) y el estar afecto de HC⁵⁶. Sin embargo, un estudio del mismo autor más reciente demostró una prevalencia más elevada de HC transitorio asociada con la

presencia de TPOAb, que se encontraron en el 77% de las madres de neonatos afectados de HC⁵⁷. Por lo tanto, es recomendable considerar la determinación de dichos anticuerpos en todo neonato afecto de HC, hijo de madre con diagnóstico confirmado de tiroiditis autoinmune.

La tiroiditis autoinmune también puede estar asociada con la producción de anticuerpos TBAb. Esta entidad es menos frecuente y su incidencia durante la gestación no está bien definida⁵⁸. Un estudio de EEUU estimó la incidencia de HC inducido por TBAb maternos en 1:180 000 neonatos, aproximadamente el 2% de los todos los casos de HC recogidos en su serie. Este anticuerpo tiene la particularidad de persistir positivo durante muchos años en algunas pacientes, hecho que explica la tendencia que tiene una mujer con esta alteración de tener múltiples hijos afectados de HC²³. Las guías actuales recomiendan determinar este anticuerpo solo en neonatos cuyas madres presentan enfermedad tiroidea autoinmune conocida, cuando existe el antecedente de otro hijo afecto o cuando se sospecha HC transitorio. Sin embargo, Brown *et al.*, recomiendan la determinación de TBAb independientemente de la historia familiar, especialmente en niños con HC inusualmente severo o en quienes la prueba de imagen demuestre tejido tiroideo normosituado. Refieren que la medición de dichos anticuerpos es necesaria para establecer el diagnóstico, ya que la presencia de TPOAb o TgAb es insuficientemente sensible, pudiendo ser negativos en algunos casos⁵⁹.

1.4.1.4. ESTUDIOS DE IMAGEN

- **Gammagrafía tiroidea**

La gammagrafía tiroidea es una excelente prueba para valorar la localización y el tamaño de la glándula tiroidea, aunque también indirectamente nos informa de su funcionalismo.

Se debe realizar lo antes posible, idealmente antes de iniciar el tratamiento sustitutivo. Si no ha sido posible, se debe efectuar dentro de la primera semana tras haber iniciado el tratamiento con LT4, ya que posteriormente el fármaco inhibirá la producción de TSH⁶⁰. Después de este periodo, la captación del radioisótopo por el tejido tiroideo, el cual depende de la acción de la TSH, puede ser casi nula. Se debe obtener una cuantificación de TSH el mismo día que se realice la gammagrafía²⁹. Si el estudio no se ha realizado en el periodo neonatal precoz, se debe posponer a después de los 3 años de vida, cuando la interrupción del tratamiento sustitutivo ya no suponga un riesgo para el desarrollo neurocognitivo del paciente⁶⁰.

Para realizarla, se pueden utilizar dos tipos de radioisótopos: tecnecio 99m (^{99m}Tc) o yodo 123 (^{123}I). El radioisótopo más utilizado es el ^{99m}Tc , que es mucho más barato y accesible; sin embargo, la imagen que se obtiene con el ^{123}I es de mayor calidad, pero es más caro y no está disponible en algunos países²⁹. Con el ^{123}I la relación señal/ruido es más alta por el proceso de organificación del yodo, el contraste es mejor y las glándulas ectópicas con escaso tejido tiroideo pueden ser mejor visualizadas. Además, si existe captación eutópica, tiene la ventaja de que se puede realizar un test de descarga con perclorato⁶⁰.

La gammagrafía es generalmente la exploración más sensible para definir las formas de disgenesia tiroidea con glándula ectópica, hipoplasia o agenesia⁶¹. Hay que tener presente que las glándulas salivares y el estómago también se visualizan porque las células expresan el transportador NIS. Una falta de captación en el tracto gástrico y salival debe orientar hacia un defecto en dicho transportador⁶⁰.

Cuando se diagnostica una agenesia tiroidea mediante la gammagrafía, se debe confirmar siempre por ecografía, ya que pueden existir diversas causas de falsos negativos (**Tabla 5**)².

Exploración realizada más allá de los 7 días tras iniciar tratamiento con LT4
Presencia de TBAb maternos
Mutaciones inactivadoras del <i>TSHR</i>
Defectos del transporte del yodo (transportador NIS)

Tabla 5. Falsos negativos de agenesia tiroidea en la gammagrafía. Extraído de ².

Cuando la gammagrafía muestra una captación elevada con o sin bocio, indica que la glándula es normofuncionante, por lo que a la captación de yodo se refiere. Este resultado indica una alteración de probable origen hereditario en la síntesis de T4. La medición de Tg ayudará en estos casos a discernir si se trata de un defecto a nivel de la Tg o bien a otro tipo de DT²⁹. Cuando la captación del radioisótopo es elevada, está indicado realizar un test de descarga con perclorato con el fin de diagnosticar defectos en la organificación del yodo⁶². El test de descarga con perclorato se puede realizar en el momento del diagnóstico o bien cuando se realice la reevaluación del paciente a partir de los 3 años de edad.

- **Ecografía tiroidea**

La ecografía tiroidea en el periodo neonatal es una prueba dificultosa, ya que el tejido tiroideo normal es de pequeño tamaño, oscilando generalmente alrededor de los 0.7-3.3 mL⁶³. Además, es una prueba muy observador-dependiente y está altamente influenciada por la experiencia del ecografista.

El tejido tiroideo normal es más ecogénico que el músculo y menos ecogénico que el tejido graso. Una ausencia de glándula en su localización normal puede ser difícil de diagnosticar mediante ultrasonido debido a la presencia de pequeñas estructuras hiperecoicas en los lados de la tráquea, tejido tímico (hipoecoico) o quistes en el área tiroidea vacía que pueden simular tejido tiroideo normal⁶⁰.

El tejido ectópico lingual y sublingual puede ser difícil de visualizar, aun con la ayuda del doppler-color⁶⁴. La habilidad de la ecografía para detectar ectopias es muy variable, alrededor de un 0-21%⁶⁵.

Los puntos fuertes de la ecografía de tiroides son tres: la detección de tejido tiroideo eutópico, ser la única técnica capaz de medir el volumen de la glándula y corregir los falsos negativos detectados por gammagrafía⁶⁰.

La combinación de la ecografía con la gammagrafía para la exploración tiroidea es altamente recomendable ya que se obtiene información morfológica y funcional de alta resolución y cada una de las dos técnicas compensa las limitaciones de la otra^{62,66}.

- **Test de descarga con perclorato**

En condiciones normales, el yoduro (I^-) es capturado por el simportador NIS en el polo basal del tirocito y es transportado hasta el polo apical, lugar donde se efectúa el proceso de organificación. Si este proceso funciona con normalidad, no queda I^- libre en el tirocito. Si, por el contrario, el proceso de organificación del I^- es defectuoso, este se acumula en el interior de la célula tiroidea. Es en esta última situación cuando el perclorato de sodio, que también es capturado por la célula tiroidea pero no es organificado, compite con el I^- y lo expulsa del tirocito⁶⁰.

El efecto del test de descarga con perclorato se evalúa midiendo la actividad tiroidea antes y después de su administración. Para ello, el primer paso es administrar un trazador, que puede ser ^{123}I o ^{131}I y, posteriormente, medir la radioactividad de la glándula tiroidea (preferiblemente

corregida por la actividad de fondo del cuello). Una o dos horas más tarde, se administran de 200 a 1000 mg de perclorato sódico vía oral (90 mg en el caso de neonatos) y se vuelven a medir la radioactividad a los 60 minutos de su administración (ocasionalmente a los 15 o 120 minutos)⁶⁷. El cambio en la actividad tiroidea se mide como la ratio entre las diferencias de actividad de la región de interés, corregida por la actividad de fondo, antes y después de la administración de perclorato sódico (**Figura 1**)⁶⁰.

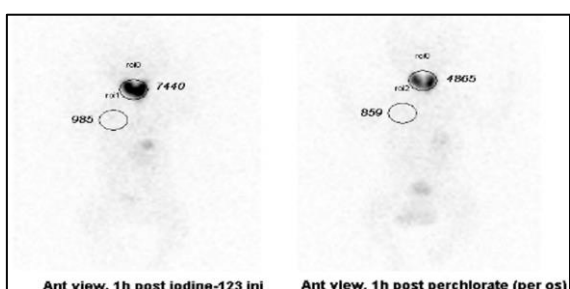


Figura 1. Test de descarga con perclorato: cálculo del cambio en la radioactividad tiroidea. Antes del perclorato (izquierda): $7440-985=6455$; después del perclorato: $4865-859=4006$ y cambio: 38%. Esto indica un defecto parcial de la organificación. Extraído de ⁶⁰.

Los criterios de positividad de la prueba varían según el centro hospitalario. En general, se considera positiva una reducción de la radioactividad acumulada, posterior a la administración de perclorato, superior al 10%. Si la reducción es del 10 al 90% se considera positivo parcial (defecto de la organificación parcial) y si es mayor al 90% positivo total (defecto total de la organificación). Una reducción inferior al 10% se considera negativa o test normal (**Figura 2**)⁶⁸.

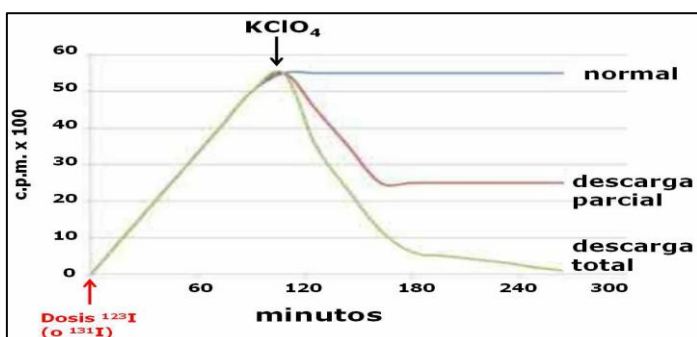


Figura 2. Curva de descarga con perclorato. Se muestran las tres situaciones clásicas: respuesta normal (donde no se descarga yoduro intratiroideo); descarga parcial (solo se descarga el % del radioyodo que no ha sido organificado) y descarga total (por bloqueo completo de la organificación). CPM: cuentas por minuto. Extraído de ⁶⁹.

En la tabla inferior (**Tabla 6**) se muestran las características ecográficas, gammagráficas y los niveles de Tg sérica en las distintas etiologías del HC primario.

DEFECTO	ECOGRAFÍA	GAMMAGRAFÍA	Tg SÉRICA
Disgenesia tiroidea			
Atireosis aparente	No tiroides	No captación	Detectable (≥ 2 ng/mL)
Atireosis verdadera	No tiroides	No captación	Indetectable
Ectopia	No tiroides o tiroides ectópico visible	Captación en glándula ectópica	Variable
Hipoplasia in situ	Tiroides eutópico pequeño	Captación baja en glándula eutópica	Normal o baja
Hemiagenesia	Hemitiroides	Hemitiroides	Normal
Dishormonogénesis			
NIS/SCL5A5	Aumentado de tamaño	Captación ausente o muy disminuida	Elevada
TPO	Aumentado de tamaño	Captación elevada/test perclorato +	Muy elevada
DUOX2/DUOX2	Aumentado de tamaño	Captación elevada/test perclorato +	Elevada
Tg	Normal/aumentado de tamaño	Captación elevada/test perclorato normal	Baja (normal o elevada si defecto cualitativo)
Síndrome Pendred (SCL26A4)	Normal/aumentado de tamaño	Captación elevada/test perclorato +	Elevada
Mutaciones inactivadoras TSHR	Normal o pequeña	Captación disminuida/ausente	Normal o baja
HC transitorio			
Exceso agudo de yodo	Normal eutópico	No captación	Normal o baja
Deficiencia crónica de yodo	Aumentado de tamaño	Captación ávida	Elevada
Anticuerpos bloqueantes maternos	Normal o pequeña	Captación disminuida o ausente	Normal o baja

Tabla 6. Ecografía, gammagrafía y niveles séricos de Tg en la orientación diagnóstica del HC. Extraído y adaptado de ³⁰.

1.4.2. TRATAMIENTO

Todos los neonatos diagnosticados de HC, con o sin bocio, deben recibir tratamiento sustitutivo con LT4 lo más pronto posible para llevarlos a un estado eutiroideo con la máxima celeridad. Esto es muy importante porque el desarrollo cognitivo óptimo de estos pacientes depende tanto de la adecuada dosificación como de la prontitud en la instauración de dicho tratamiento⁷⁰. Se ha demostrado que la instauración del tratamiento antes de las tres semanas de vida es crucial para el neurodesarrollo y para lograr un resultado intelectual dentro de la normalidad en los pacientes afectados^{71,72}. El tratamiento nunca se debe demorar con el objetivo de realizar la gammagrafía²⁹.

La ESPE, basándose en los resultados de laboratorio, recomienda iniciar tratamiento sustitutivo en las siguientes situaciones³⁰:

- Si la concentración venosa de FT4 se encuentra por debajo de los rangos normales según edad, el tratamiento se debe iniciar de forma inmediata.
- Si la concentración venosa de TSH es superior a 20 mU/L se debe iniciar tratamiento, aunque los niveles de FT4 sean normales.
- Si la concentración venosa de TSH es de entre 6 y 20 mU/L en un niño asintomático de más de 21 días de vida y con niveles de FT4 correctos para la edad, se sugieren dos opciones:
 - Definir mediante pruebas de imagen el diagnóstico definitivo.
 - Consensuar, de acuerdo con la familia, si iniciar tratamiento sustitutivo inmediato y reevaluar más adelante suspendiendo el tratamiento; o bien, mantener actitud expectante y repetir los niveles hormonales a las dos semanas.

Aunque el tratamiento de elección del HC es LT4 sola, algunos autores han recomendado el uso combinado de esta hormona con T3, ya que esta última es la hormona tiroidea biológicamente más activa. Sin embargo, esta combinación no ha demostrado ninguna ventaja significativa, probablemente porque la T3 cerebral deriva de la monodesyodación local de T4^{73,74}.

El tratamiento se debe administrar por vía oral y en ayunas. En neonatos, se recomienda en forma de pastilla que se puede resuspender, si es necesario, en unos mililitros de agua o leche^{29,30}. Se debe prestar atención en evitar administrarla con contaminantes que pueden alterar su absorción y biodisponibilidad como son el hierro, la fibra y la soja⁷⁵.

La dosificación inicial recomendada es aquella que sea capaz de normalizar rápidamente los niveles de T4. Tanto la AAP como la ESPE recomiendan una dosis inicial de LT4 de 10-15 mcg/kg/día, ajustando la dosis según el grado de severidad del hipotiroidismo. Con estas dosis se logra normalizar los niveles de T4 en dos semanas y los de TSH en un mes, hecho que constituye el principal objetivo terapéutico^{29,30}. Sin embargo, la dosificación inicial óptima de LT4 es todavía motivo de discusión. Se ha demostrado que, con una dosis inicial de LT4 de 50 mcg al día (aproximadamente 12-17 mcg/kg/día), los niveles de T4 se normalizan en tres días y los de TSH en dos semanas. Los autores de este estudio argumentan que se debería considerar mantener el rango de FT4 más alto durante las dos primeras semanas de tratamiento (2-5 ng/dL) pero también destacan la importancia de un seguimiento del neurodesarrollo de los niños tratados con dosis altas para determinar si este rango en el límite alto es seguro y beneficioso⁷⁶. Contrariamente, un estudio publicado recientemente, analizó la tasa de sobretratamiento con la actual dosis recomendada y demostró que un 36,5% de los pacientes con dosis iniciales de 12±2,5 mcg/kg/día requirieron una reducción de dosis por hipertiroxinemia⁷⁷. Respecto al pronóstico neurocognitivo, algunos autores demuestran que dosis altas de tratamiento resultan en índices más altos de coeficiente intelectual⁷², mientras que otros evidencian que, aunque tengan mejores resultados en el área de la inteligencia, habilidad verbal y memoria, también presentan más problemas conductuales, de ansiedad, déficit de concentración y aislamiento social⁷⁸.

La monitorización del tratamiento se basa en controles periódicos de T4 o FT4 y TSH, con los que se va ajustando la dosificación de LT4. La muestra de sangre debe ser extraída, como mínimo, cuatro horas después de la última toma de medicación³⁰. El primer control se debe realizar a las dos semanas de iniciar el tratamiento y, posteriormente, se deben realizar con frecuencia, sobre todo durante los tres primeros años de vida (**Tabla 7**). Las dosis son decrecientes con la edad e individualizadas en cada paciente y se van ajustando según los niveles de hormona tiroidea (**Tabla 8**).

Edad	Frecuencia de monitorización
1-6 meses de vida	1-2 meses
6 meses – 3 años	3-4 meses
3 años- finalización del crecimiento	6-12 meses
Después de cualquier cambio de dosis	A las 4 semanas

Tabla 7. Frecuencia de monitorización según rango de edad. Extraído y adaptado de ²⁹.

Durante los tres primeros años de vida se recomienda mantener los niveles de FT4 en el rango alto de la normalidad (1,4-2,3 ng/dL) y unos niveles de TSH normales/bajos (0,5-2mU/L)²⁹.

Durante el primer mes de tratamiento los niveles plasmáticos de TSH son de poca ayuda para ajustar la dosificación, ya que no se normalizan hasta las cinco semanas, por lo que, durante este periodo, se deben tener más en cuenta los valores de FT4. Una vez la TSH ha alcanzado niveles normales, este es el parámetro de máxima fiabilidad⁷⁹.

En aproximadamente el 10% de los pacientes mayores de un año de edad, la TSH puede permanecer elevada pese al correcto tratamiento y con los niveles de FT4 en rango óptimo. Se postula que esto puede ser debido a un mecanismo de retroalimentación negativo anómalo en la regulación de la sensibilidad de la TSH a la FT4. Esta desregulación se corrige en la mayoría de estos pacientes antes de los 3 años de edad⁸⁰.

Edad cronológica	Dosis (mcg/kg/día)
0-1 mes	10-15
1-2 meses	7-10
3-5 meses	4-7
6 meses – 2 años	4-6
3-10 años	3-4
10-12 años	2-3
>12 años	1-2

Tabla 8. Dosis de LT4 en el HC. Extraído y adaptado de ⁸¹.

1.4.3. REVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

La reevaluación diagnóstica del HC es sumamente importante cuando no se dispone de un diagnóstico etiológico de certeza. Cuando el diagnóstico etiológico del HC es una agenesia tiroidea o una glándula ectópica se considera HC permanente y no es necesaria la reevaluación diagnóstica. La AAP y la ESPE también consideran que el HC será probablemente permanente si los niveles de TSH se incrementan en algún momento más de 10 mU/L durante el primer año de tratamiento²⁹.

Sin embargo, una proporción importante de los pacientes diagnosticados de HC con GIS, presentarán formas transitorias de HC. Algunos estudios demuestran que, hasta un tercio de los pacientes afectados de HC con tejido tiroideo eutópico, tendrán una forma transitoria de disfunción

tiroidea⁸². Es imperativo, por lo tanto, realizar una reevaluación diagnóstica en estos pacientes que presentan GIS. Asimismo, también consideran indicado realizar una reevaluación diagnóstica si el tratamiento se inició en un neonato “enfermo” (por ejemplo, prematuro), si los anticuerpos maternos son positivos, si no han precisado incremento de dosis del tratamiento sustitutivo durante la infancia y en aquellos en los que no se ha identificado defecto genético o no se ha estudiado^{29,30}. También son candidatos a la reevaluación pacientes con glándula tiroidea de tamaño normal o pequeño en la ecografía pero que presentan ausencia de captación en la gammagrafía, ya que este patrón es sugestivo de anticuerpos maternos bloqueantes de la TSH o mutaciones bialélicas del gen *TSHR*⁸³.

La reevaluación se debe realizar en algún momento de la evolución del paciente, pero siempre más allá de los tres años de edad, ya que, para efectuarla, es preciso suspender el tratamiento sustitutivo con LT4 durante 30 días. A partir de los 3 años de edad, se considera que la mielinización del sistema nervioso central ya se ha completado y que, por lo tanto, ya no existe riesgo a nivel neurológico al suspender el tratamiento⁸⁴.

Tras la suspensión del tratamiento sustitutivo durante 30 días se deben analizar los niveles de TSH y FT4 para establecer el tipo de HC. Si la TSH se encuentra por encima de 10 mU/L, el HC se considera permanente y se debe reiniciar el tratamiento; si se encuentra entre 5 y 10 mU/L, se define como hipertirotrópinemia y se individualiza la estrategia a seguir por lo que al tratamiento se refiere; y si la TSH se encuentra por debajo de 5 mU/L, se considera un HC transitorio, por lo que el tratamiento se puede suspender⁶⁸.

Los pacientes con un grado de afectación severa pueden presentar diferentes grados de hipotiroidismo clínico al suspender la medicación durante 30 días. Una opción alternativa en estos pacientes es reducir la dosificación de la terapia sustitutiva a la mitad y reevaluar los niveles de TSH a los 30 días, y si estos se encuentran por encima de 20 mU/L, se confirma el diagnóstico de HC permanente. Si, por el contrario, los niveles de TSH no se elevan en esta proporción, se retira el tratamiento durante 30 días más y se vuelve a evaluar a nivel bioquímico, clasificándose el HC según la descripción realizada en el párrafo anterior²⁹.

Se han publicado en la literatura diversos estudios en los que se analizan otros factores predictores de HC permanente o transitorio. Un estudio realizado en Macedonia reportó que cifras de TSH en el cribado inferiores a 30.5 mU/L son predictivas de HC transitorio⁸⁵. Rabbiosi *et al.*, afirmaron que los factores de riesgo más importantes para padecer una forma permanente de HC eran la prematuridad, antecedentes de primer grado familiar de bocio o nódulos, hipoplasia tiroidea al

diagnóstico y altos requerimientos de LT4 durante el seguimiento⁶⁸. Respecto a los requerimientos de LT4, son diversos los trabajos que han reportado la importancia de la dosificación de LT4 para orientar la forma transitoria o permanente del HC^{86,87,88}.

Si se sospecha una DT y no se ha realizado el estudio genético con anterioridad, este es un buen momento para realizar las pruebas necesarias para orientar dicho diagnóstico. El test de descarga con perclorato es una prueba útil que puede ayudar a esclarecer el diagnóstico de posibles defectos en la organificación del yodo. En algunos grupos de trabajo, la práctica de esta prueba ayudó a detectar defectos de la organificación en aproximadamente un 30% de los pacientes, la mayoría con defectos permanentes. Estos autores recomiendan que se realice este test solo en aquellos casos en los que se tenga la intención y la posibilidad de estudiar los defectos genéticos subyacentes, ya que la variabilidad clínica en estos pacientes es tan amplia que no permite establecer los criterios clínico-analíticos con los que decidir si un paciente es candidato o no a efectuar esta prueba⁶⁸.

En los casos en los que en el momento de la reevaluación ya se disponga de un diagnóstico genético compatible con HC permanente, se puede obviar la reevaluación. Una excepción a esto último la constituyen los defectos genéticos en el gen *DUOX2*, que pueden causar con relativa frecuencia formas transitorias de HC, por lo que se debería considerar la reevaluación en aquellos pacientes en los que se haya encontrado alguna mutación en este gen^{10,89}.

2. BIOSÍNTESIS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS

2.1. INTRODUCCIÓN

La síntesis de las hormonas tiroideas tiene lugar en la unidad funcional de la glándula: el folículo tiroideo. Los folículos tiroideos se disponen alineados en una monocapa de células epiteliales polarizadas conectadas de forma compacta, también llamadas tirocitos, que se organizan en estructuras quísticas esferoidales irregulares de tamaño variable⁹⁰.

El interior del folículo, que se conoce también con el nombre de coloide debido a la alta cantidad de proteínas que contiene, está compuesto principalmente por Tg yodada. Esta proteína está en contacto directo con la membrana apical de los tirocitos, que está formada por una membrana

festoneada de microvellosidades, encarada al lumen folicular. El exterior del folículo está delimitado por la membrana basolateral, que está en contacto con los capilares sanguíneos⁹¹.

El complejo mecanismo que da lugar a la hormonogénesis tiroidea, tiene como sustrato principal e indispensable el yodo (I), y se basa en el correcto funcionamiento de las diferentes proteínas localizadas en el tirocito, los genes que las codifican y los factores de transcripción que regulan a estos últimos.

A continuación, se detallan cada uno de los pasos y moléculas implicadas en el intrincado engranaje de la biosíntesis y secreción de las hormonas tiroideas.

2.2. TRANSPORTE DE YODO

2.2.1. DISPONIBILIDAD DEL YODO

El yodo es un elemento biológico cuya función principal es la de actuar como sustrato para la síntesis de las hormonas tiroideas. Entre el 70 y el 80% del yodo del cuerpo humano se encuentra en la glándula tiroidea. Su disponibilidad depende de la ingesta oral. Las recomendaciones de ingesta diaria varían en función de la edad (**Tabla 9**).

La mayor parte del yodo se encuentra en los océanos (el agua del mar contiene 50 mcg/L) y las zonas más deficitarias se encuentran en áreas montañosas o regiones donde hubo glaciaciones e inundaciones⁹².

La fuente natural de yodo la constituyen los alimentos y el agua. El contenido de yodo en los alimentos depende de los niveles de yodo de la tierra. El contenido de yodo de las plantas que crecen en zonas de tierra deficitarias es de 10 mcg/kg de su peso seco, comparado con el contenido de las que crecen en áreas ricas en yodo, que puede llegar a ser hasta de 1000 mcg/kg.

El yodo se acumula fundamentalmente en las zonas costeras, por lo que las fuentes más comunes de yodo dietético son las algas y otros alimentos procedentes del mar, como pescados y crustáceos. La sal yodada también constituye otra fuente importante, así como los lácteos y el pan.

El yodo puede existir en diferentes formas de oxidación, incluyendo el yodato (IO_3^-) y el yoduro (I^-). El IO_3^- se puede usar como aditivo en el pan y es el que se utiliza para yodar la sal de mesa. Después de la ingesta, el IO_3^- se reduce en el intestino para formar I^- , donde más del 90% se absorbe a través del estómago y duodeno. El I^- es 100% biodisponible y se absorbe completamente, siendo

después captado por el tiroides (entre el 5-100%, dependiendo del estado funcional de la glándula) o excretado. La glándula tiroidea normal contiene aproximadamente 15 gr de yodo⁹³.

Grupo de edad	Recomendaciones diarias (mcg)
Pre-escolares (0-59 meses)	90
Escolares (6-12 años)	120
Adolescentes y adultos (>12 años)	150
Mujeres embarazadas y lactantes	250

Tabla 9. Recomendaciones diarias de ingesta de I según WHO, UNICEF e ICCID. Extraído de ⁹².

2.2.2. CAPTACIÓN DEL YODO

2.2.2.1. NIS

La glándula tiroidea capta I⁻ del torrente sanguíneo a través del simportador Na⁺/I⁻ NIS, localizado en la membrana basolateral del tirocito.

El transporte de I⁻ al interior del tirocito se efectúa contra gradiente, ya que la concentración de I⁻ en el plasma en condiciones fisiológicas es 20-50 veces menor que en el interior de la célula tiroidea⁹⁴. El NIS acopla el transporte de Na⁺ hacia el interior del tirocito, cuyo transporte se realiza a favor de su gradiente, al transporte simultáneo de I⁻ en contra de su gradiente electroquímico. La actividad del NIS es electrogénica; transloca dos iones Na⁺ por un ion I⁻. Este transporte activo se realiza mediante el gradiente generado por la bomba Na⁺/K⁺ ATPasa, situada en la membrana basolateral del tirocito⁹⁵.

El efecto Wolff-Chaikoff corresponde a la reducción del transporte de I⁻ y de su organización cuando los tirocitos están expuestos a altas concentraciones de I⁻. Se ha demostrado que el exceso de I⁻ crónico o agudo disminuye los niveles de mRNA y los niveles proteicos de NIS, hecho que pone de manifiesto la participación de NIS en el mecanismo de escape del efecto Wolff-Chaikoff⁹⁶.

En el año 1996 se secuenció el gen *NIS*, que se encuentra localizado en el cromosoma 19p13.2-p12 y es el responsable de codificar la proteína que transporta el I⁻ al interior del tirocito⁹⁷.

El simportador NIS pertenece a la familia de transportadores de soluto 5A (SLC5A5) y su modelo de estructura secundaria experimental predice una proteína con 13 segmentos transmembrana con el extremo amino-terminal extracelular y el extremo carboxi-terminal intracelular (**Figura 3**)⁹⁸.

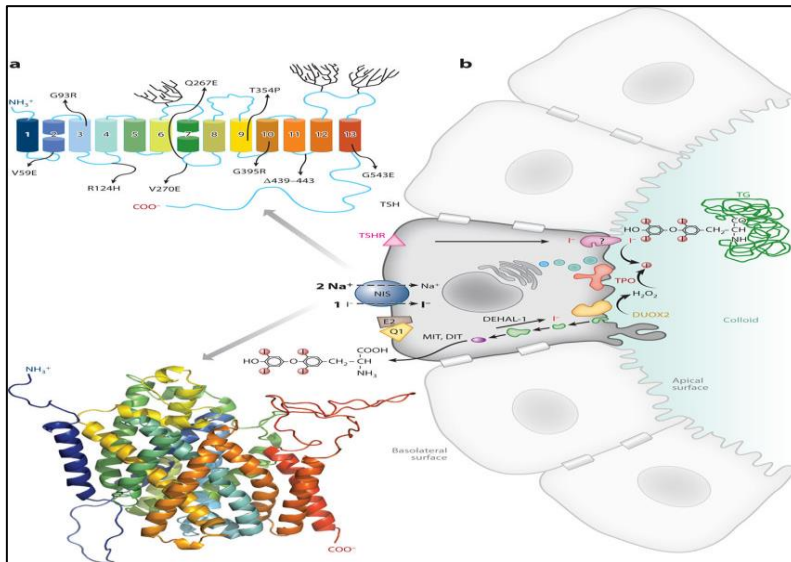


Figura 3. Estructura y localización del simportador NIS. Extraído de ⁹⁸.

El gen *NIS* también se expresa en tejidos extratiroideos como la glándula mamaria lactante, la mucosa gástrica y salival, las glándulas lagrimales, el conducto nasolagrimal y el plexo coroideo⁹⁸. En las células foliculares, el NIS es activado por la acción de la TSH e inhibido por sustancias competitivas como el perclorato y el tiocianato⁹⁹.

La TSH actúa en el tirocito a través de su receptor, el TSHR, que se encuentra en la membrana celular basolateral y pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G¹⁰⁰. La señalización de la TSH a través de su receptor causa la disociación de la proteína G en las subunidades G_α y G_{βγ}. La subunidad G_α activa la adenil ciclasa, que incrementa los niveles de cAMP que, a su vez, inducen la transcripción de *NIS* a través de un mecanismo en el cual participa PAX8. Por otro lado, la activación de las subunidades G_{βγ} genera la activación de PI3K, que inhibe la expresión de *NIS* reduciendo la unión de PAX8 a la zona promotora del gen (**Figura 4**)¹⁰¹.

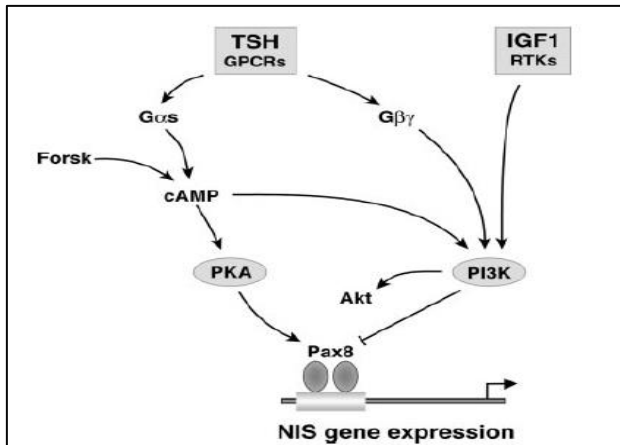


Figura 4. Regulación de la expresión del gen *NIS*. Extraído de ¹⁰¹.

La transcripción del gen *NIS* depende de la presencia de varios factores de transcripción que incluyen la proteína PAX8 y la proteína NKX2-1, los cuales se unen a la región promotora del gen estimulando su transcripción¹⁰².

La estructura de la región promotora del gen *NIS* del ratón ha sido estudiada en detalle durante los últimos años. Esta zona promotora está formada por dos regiones reguladoras principales: el promotor proximal, que está relativamente cerca del lugar del inicio de la transcripción, y el *upstream enhancer*. El promotor proximal contiene sitios de unión para TITF-1 (también denominado NKX2-1), NTF-1 y Sp-1, mientras que el *upstream enhancer* contiene sitios de unión para PAX8, TITF-1 y un elemento de respuesta a cAMP (CRE). La interacción de PAX8 y de un factor que se une a la secuencia CRE es necesaria para activar la transcripción tiroidea específica dependiente de cAMP (**Figura 5**)¹⁰³.

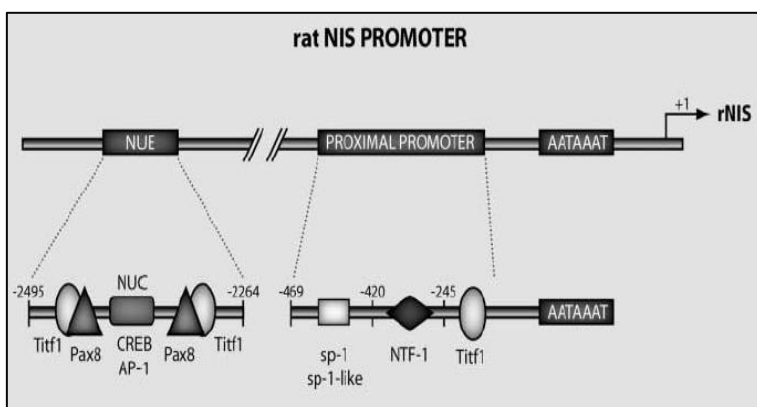


Figura 5. Diagrama del promotor *NIS* del ratón. Extraído de ¹⁰³.

Además de estimular la síntesis *de novo* de la proteína NIS, se ha demostrado que la TSH también juega un papel importante en la regulación postranscripcional, regulando el tráfico y la retención de la proteína en la membrana basocelular del tirocito, acción probablemente mediada por un proceso de fosforilación¹⁰⁴.

2.2.2.2. KCN

Además de NIS, la membrana basolateral del tirocito también dispone de otros transportadores de membrana: los canales de K⁺ KCNQ1 y KCNE2.

El proceso de captación del I⁻ requiere canales de potasio que promuevan el eflujo de este ion al exterior de la célula. Se ha demostrado que los canales de K⁺ KCNQ1 y KCNE2 son esenciales para el transporte de I⁻ al interior de la célula. Se postula que su mecanismo de acción se basa en regular el potencial de membrana del tirocito. La captación de I⁻ mediada por NIS, como se ha descrito anteriormente, es electrogénica, por lo que su actividad despolarizaría la célula sin la ayuda de otros flujos iónicos reguladores. La actividad de los canales KCNQ1 y KCNE2 no es dependiente de voltaje, por lo que tienen la capacidad de permitir el eflujo de K⁺ y así mantener el potencial de membrana negativo, haciendo posible mantener la acción de NIS¹⁰⁵.

Purtell *et al.* demostraron que la disrupción del gen *KCNE2* en ratones causaba disminución del I⁻ intracelular, bocio e hipotiroidismo. Por lo tanto, los canales de K⁺ KCNQ1 y KCNE2 son necesarios para la correcta captación de I⁻ dentro del tirocito, considerándose un prerequisite para la correcta actividad del NIS¹⁰⁵.

2.2.3. EFLUJO DE YODO

2.2.3.1. PENDRINA

Una vez el I⁻ se encuentra en el citoplasma de la célula folicular, debe ser trasladado a la membrana apical para ser transportado al coloide, proceso que se denomina eflujo de I⁻, ya que su paso a través de dicha membrana se efectúa a favor de gradiente⁹⁰. Comparado con la captación de I⁻, el eflujo de I⁻ es un proceso menos conocido y las moléculas efectoras están menos caracterizadas.

Este proceso puede estar mediado por más de un canal apical. Los mecanismos por los que se produce este transporte se encuentran todavía en estudio y, aunque el mayor candidato es la

pendrina, se postula que esta acción podría llevarse a cabo mediante un engranaje de varios canales de membrana.

La pendrina fue la primera proteína que se relacionó con el eflujo apical de I⁻, actuando como un intercambiador de Cl⁻/I⁻ en la membrana apical del tirocito¹⁰⁶. Esta proteína pertenece a la familia de transportadores de solutos 26A. El gen de la pendrina o *SLC26A4* (transportador de solutos 26A4) está formado por 21 exones y está localizado en el cromosoma 7q21-31. Este gen codifica una proteína de membrana altamente hidrofóbica de 780 aminoácidos que está formada por 12 dominios transmembrana, con un dominio intracelular amino y carboxi-terminal y 3 dominios extracelulares de N-glicosilación.

Se ha detectado expresión de este gen en las células foliculares tiroideas, en el sistema endolinfático del oído interno y en el córtex renal. También se expresa en otros órganos como placenta, pulmón, mama, próstata y testículos, aunque su función en estos está menos establecida. El factor de transcripción TITF-1 regula la expresión del gen *SLC26A4* de forma positiva. La Tg también ejerce el mismo efecto sobre el gen de la pendrina, al contrario de lo que sucede con la regulación negativa que Tg ejerce sobre otros genes tiroideos como *TSRH*, *NIS*, *TPO*, *PAX8*, *TITF-1* y *TITF-2*¹⁰⁷.

En la glándula tiroidea la pendrina ejerce su función en la membrana apical del tirocito, donde media la captación de I⁻ y Cl⁻ hacia el coloide. Las inactivaciones bialélicas de este gen causan el síndrome de Pendred, que se caracteriza por sordera en todos los pacientes e hipotiroidismo de intensidad variable, bocio y defectos en la organificación del I⁻ en la mayoría de ellos.

Sin embargo, los individuos con mutaciones bialélicas en el gen de la pendrina y que conservan una ingesta de yodo adecuada, tienen un fenotipo de HC leve o incluso nulo, hecho que indica que el eflujo de I⁻ a través de la membrana apical se realiza de manera independiente a la pendrina a través de otros canales¹⁰⁷. Algunos autores sugieren que la pendrina es esencial para la generación de H₂O₂ y que su papel fundamental en la membrana apical es el de intercambiar HCO₃⁻ intracelular por Cl⁻ luminal, incrementando así el pH luminal¹⁰⁸.

2.2.3.2. CIC-5

El canal de cloro CIC-5 pertenece a la familia de transportadores intracelulares del cloro. Se encuentra fundamentalmente en los endosomas y funciona como un intercambiador electrogénico

de Cl^-/H^+ , movilizando 2 Cl^- por cada H^+ . También transporta I^- , aunque con menos afinidad que el Cl^- .

El gen *CIC-5* se localiza en el cromosoma Xp11.22 y contiene 12 exones, que codifican una proteína de 746 aminoácidos, que tiene alta homología con los otros transportadores de cloro voltaje-dependientes¹⁰⁹.

Este transportador se expresa fundamentalmente en el riñón, donde se ha localizado en diferentes tipos de células tubulares. Se ha demostrado que mutaciones inactivadoras de *CIC-5* causan la enfermedad de Dent (nefrocalcinosis familiar ligada al cromosoma X) por defectos en la endocitosis apical en las células del túbulo proximal¹⁰⁹.

En el 2006, se demostró que *CIC-5* también se expresa en la glándula tiroidea, que se localiza en el polo apical de los tirocitos y que participa de manera activa en el eflujo de I^- . Estos autores concluyeron que los ratones *knockout* para este gen desarrollaban bocio a los 5 meses de vida y, que, aunque los niveles de TSH y T4 circulantes eran normales, presentaban un defecto parcial en la organificación del I^- , probablemente por una liberación tardía de este al lugar de organificación extracelular. La inactivación de *CIC-5* no se relacionó con defectos en la endocitosis en la glándula tiroidea. Además, en los ratones *knockout* también se identificó una disminución sustancial de los niveles de pendrina, tanto de RNA, como de proteína¹¹⁰.

Más recientemente, se ha demostrado que los pacientes afectos de síndrome de Pendred presentan una elevación compensatoria de los niveles de *CIC-5*, que actúa como mecanismo de rescate para mantener el eflujo de I^- en ausencia de pendrina. Concluyen que las diferencias en la eficiencia de este mecanismo compensatorio podrían explicar la heterogeneidad del grado de hipotiroidismo en los pacientes afectos de síndrome de Pendred¹¹¹.

2.2.3.3. ANO-1

Recientemente se ha identificado otro transportador apical de I^- que se activa a través de la movilización de calcio. Se trata del ANO-1 o TMEM16A (anoctamina-1 o proteína transmembrana 16A), cuya función contribuye al vaciado rápido de I^- al interior del coloide¹¹².

El gen *ANO-1* se clonó en el 2008 y se identificó como un canal de Cl^- activado por calcio. Pertenece a una familia de 10 genes parálogos que comparten una tipología transmembrana, pero difieren en su función. Las diferencias en las propiedades funcionales de *ANO-1* son debidas a un proceso de *splicing* alternativo¹¹³. Las variantes generadas por *splicing* difieren en su sensibilidad al calcio,

siendo mayor en la isoforma (ac). Las isoformas más frecuentes en el tiroides son la (abc) y la (ac)¹¹². El mecanismo por el cual el calcio activa ANO-1 podría implicar a la calmodulina así como a la unión directa del calcio a la proteína¹¹³ (**Figura 6**).

En el 2014, se publicó un estudio en el que se demostró que el transportador ANO-1 genera un eflujo rápido de I⁻ en la membrana apical a través del estímulo del calcio¹¹². Posteriormente, otro estudio demostró que el eflujo de I⁻ en el ratón y en el humano se lleva a cabo, principalmente, por este transportador. Estos autores demostraron que ANO-1 tiene mayor afinidad para transportar I⁻ que Cl⁻ y que su transporte es dependiente del calcio²⁰.

En la **Figura 7** se muestra de manera esquemática el sistema de transporte del I⁻ en el tirocito.

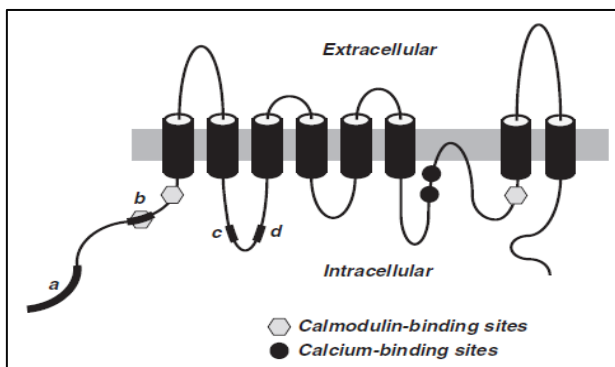


Figura 6. Modelo esquemático de ANO-1, Isoformas y lugares de unión del calcio. Extraído de ¹¹³.

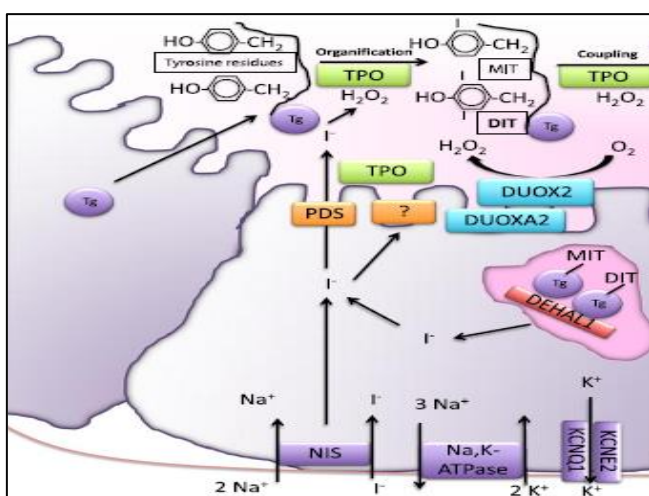


Figura 7. Mecanismos de transporte del I⁻ en el tirocito. PDS, pendrina ; ?, podría corresponder a ANO-1 y CIC-5. Extraído y adaptado de ⁹².

2.3. SÍNTESIS DE TIROGLOBULINA

La Tg es la proteína más abundante en la glándula tiroidea y sus funciones principales son dos: actuar como base para la biosíntesis de hormonas tiroideas y almacenar formas inactivas de yodo y hormonas tiroideas.

El gen que codifica la Tg es grande, contiene 48 exones y se localiza en el cromosoma 8q24.2. El *splicing* alternativo genera varios transcritos y como consecuencia, una población heterogénea de polipéptidos de Tg. Además, el gen de la Tg contiene múltiples polimorfismos de nucleótido simple¹⁰⁷. La expresión de *TG* se controla de manera positiva por la TSH y su transcripción se regula por factores de transcripción específicos como TTF-1, TTF-2 y PAX-8¹¹⁴ y por la interacción del coactivador p300 en su región promotora¹¹⁵.

La Tg es un dímero proteico de un peso molecular de 660 kDa compuesta por dos subunidades de 330 kDa cada una. La molécula de Tg está dividida en 2 regiones, bien diferenciadas: la N-terminal, que representa el 80% de la molécula, y la C-terminal. Los primeros 19 residuos de la región N-terminal constituyen el péptido señal. El resto de la cadena polipeptídica del extremo N-terminal presenta una estructura altamente organizada, en la que existen tres dominios donde los residuos de cisteína están muy conservados. Mediante la formación de puentes disulfuro entre monómeros, estos residuos de cisteína incrementan la estabilidad de la molécula y su resistencia a la proteólisis. Estos tres dominios son: el tipo 1, compuesto por aproximadamente 50 residuos que se repiten 10 veces entre los aminoácidos 1 y 1200; el tipo 2, compuesto por 14-17 residuos que se repiten tres veces entre las posiciones 1436 y 1483 y el tipo 3, formado por dos subtipos (A y B) que se repiten cinco veces entre las posiciones 1583 y 2170¹¹⁶. Se especula que cada una de estas regiones está implicada en una función diferente: la región 1 controla la unión de la Tg a otras proteínas; la región 2 controla la adhesión celular y la 3, está involucrada en mantener la estructura molecular¹¹⁷. Se ha demostrado que pacientes con mutaciones que causan sustituciones de estos residuos de cisteína presentan grados variables de bocio por acúmulo de Tg en el retículo endoplasmático¹⁶.

El resto de la estructura la constituye un dominio carboxi-terminal, formado por una secuencia de 581 aminoácidos con una alta similitud a la secuencia de la acetilcolinesterasa. Esta parte de la molécula contiene unos 140 residuos de tirosina, de los cuales solo unos 30 se yodarán y muy pocos de estos se conjugarán para formar T3 y T4. Esta región es esencial para la maduración conformacional normal y para el transporte intracelular de la proteína hacia el lugar de su yodación y hormonogénesis¹¹⁷.

La Tg sufre varias modificaciones post-translacionales antes de su secreción y yodación. En el retículo endoplasmático se pliega y dimeriza. La glicosilación de la Tg tiene lugar en el aparato de Golgi. Aproximadamente un 10% del peso total de la Tg son carbohidratos, mayoritariamente oligosacáridos. Este proceso de glicosilación es esencial para mantener la estructura tridimensional de la Tg. La Tg glicosilada se empaqueta en vesículas exocíticas que se funden con la membrana apical liberando su contenido al lumen folicular, donde varios residuos de tirosina se yodan y, posteriormente, se acoplan para formar T3 y T4¹¹⁸.

En la **Figura 8** se representa de forma esquemática la estructura del gen de la Tg y de la cadena polipeptídica.

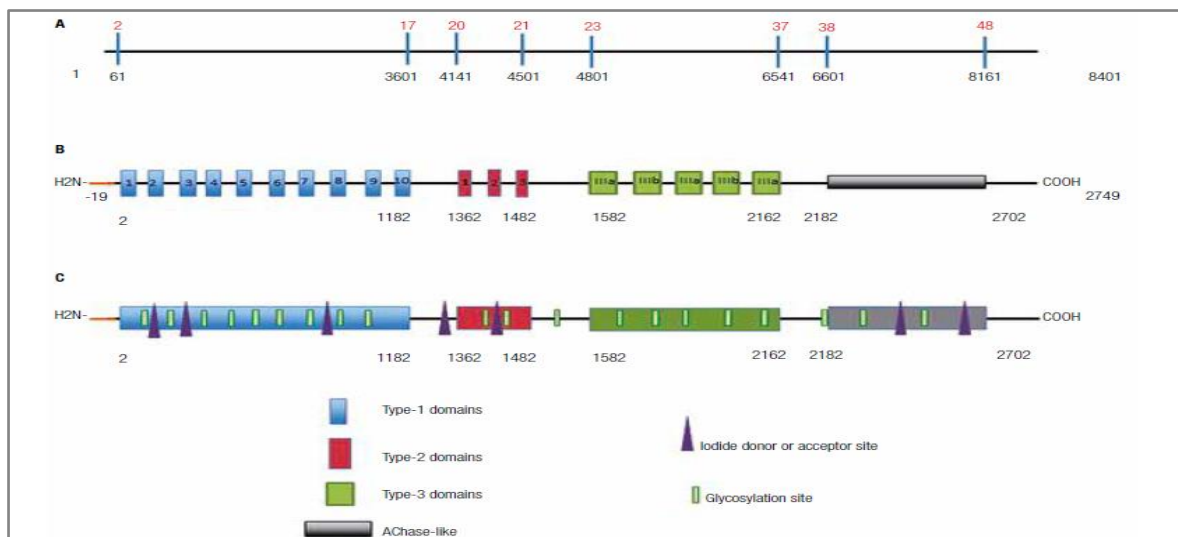


Figura 8. Representación esquemática del gen *TG* y de la cadena polipeptídica. **A:** estructura del gen. En negro, los nucleótidos; en rojo, los exones codificantes para los dominios repetitivos y la porción carboxi-terminal. **B:** estructura de la cadena polipeptídica (2749 aminoácidos). En naranja, péptido señal; en azul, dominio 1 (codificado por los exones 2-17); en rojo, dominio 2 (codificado por los exones 20-21); en verde, dominio 3 (codificado por los exones 23-37). En gris se representa el dominio acetilcolinesterasa (codificado por los exones 38-48). **C:** esquema polipéptico. En verde, sitios de glicosilación; triángulos, sitios de yodación. Extraído de ¹¹⁶.

2.4. ORGANIFICACIÓN DEL YODO

Una vez se ha realizado la captación de I^- , el tiroides rápidamente lo oxida y lo une a los residuos tirosínicos de la Tg. Este proceso, también conocido como organificación del yodo, requiere la presencia de varios elementos: el I^- , un sistema generador de H_2O_2 , la enzima TPO y la Tg como aceptor del yodo.

2.4.1. SISTEMA DUAL-OXIDASA

2.4.1.1. DUOX1/DUOX2

La generación de H_2O_2 es un paso crítico en la síntesis de las hormonas tiroideas. La TPO utiliza H_2O_2 como sustrato para efectuar la yodación de la Tg, por lo que el sistema generador de H_2O_2 actúa como cofactor en la organificación del I^{-10} .

Hace unos años se demostró que la enzima que nutre a la TPO de H_2O_2 para que esta pueda ejercer su función es una NADPH oxidasa calcio-dependiente¹¹⁹. Más recientemente se han identificado los componentes del sistema generador de H_2O_2 en la glándula tiroidea: las proteínas DUOX1 y DUOX2^{120,121}.

Los genes *DUOX1* y *DUOX2* se localizan en el cromosoma 15q15.3, se encuentran muy cercanos el uno al otro y contienen 34 exones, de los cuales 33 de ellos son codificantes. Los genes *DUOX1* y *DUOX2* codifican proteínas de 1551 y 1548 aminoácidos, respectivamente¹⁰. Las secuencias polipeptídicas codificadas por ambos genes muestran una homología muy alta, del 83%¹²⁰. A pesar de esta homología, se piensa que DUOX2 es la isoenzima dominante en el tejido tiroideo, ya que se ha demostrado que su expresión es al menos 5 veces más elevada que la de DUOX1¹⁰ y que las mutaciones que afectan *DUOX2*, pero no *DUOX1*, se han asociado a HC. Además, en los modelos murinos, solo la pérdida de función de *DUOX2* se asocia con HC, por lo que el papel de *DUOX1* en la hormonogénesis se considera, actualmente, hipotético¹²².

Estas dos enzimas pertenecen a la familia NOX/DUOX, que está formada por 7 miembros, incluyendo 5 NADPH oxidasas (NOX1, NOX2, NOX3, NOX4 y NOX5) y 2 DUOX (DUOX1 y DUXO2). Los tirocitos, además de DUOX1 y DUOX2, también expresan NOX4. Esta familia de enzimas oxida el NADPH citoplasmático y transfiere 2 electrones al exterior de la célula utilizando como vectores el FAD (flavín-adenín-nucleótido) y dos grupos hemo, para así reducir los niveles de oxígeno extracelulares¹²³. La proteína DUOX2, así como su isoenzima DUOX1, es una proteína de membrana formada por siete dominios transmembrana. La región que contiene los últimos seis dominios y la región C-terminal intracelular es una zona homóloga en las otras 5 NADPH oxidasas. En esta zona, se encuentran los 2 grupos hemo y un sitio de unión para FAD (flavín-adenín-nucleótido) y NADPH. Por el contrario, el ectodominio N-terminal y el primer dominio transmembrana son específicos para ambas DUOX. Esta región contiene dos dominios mano-EF, que son dominios formados por dos hélices alfa, entre medio de las cuales se une el calcio; por lo que, dicha zona, está implicada en la regulación calcio-dependiente de esta enzima¹²⁴. La estructura básica de las enzimas DUOX es la de NOX5, pero añadiendo a este extremo N-terminal una hélice transmembrana extra a la que

se une un dominio que es homólogo a peroxidasas, que se localiza fuera de la membrana celular (**Figura 9**)¹²⁵.

DUOX se localiza en la membrana apical muy cerca de TPO y, aunque su dominio homólogo a las peroxidasas tiene un 43% de similitud con TPO, no hay evidencia de que tenga actividad peroxidasa¹²⁶.

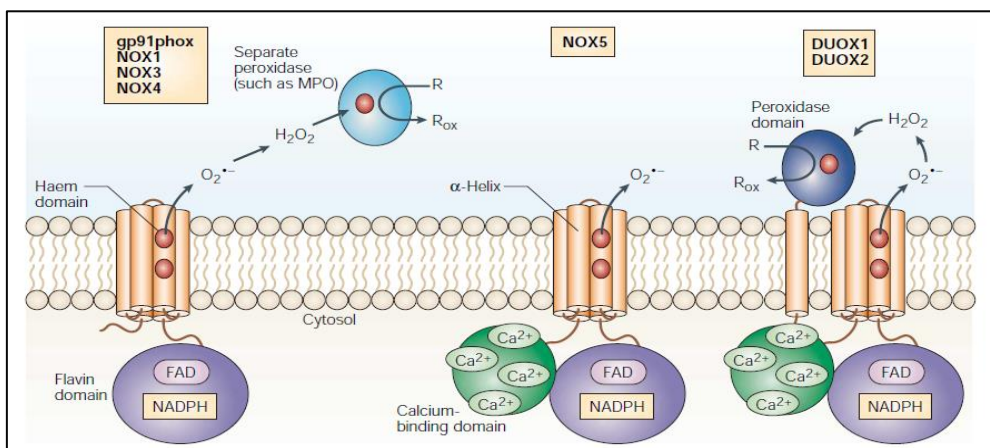


Figura 9. Enzimas NOX y DUOX: tipología transmembrana y estructura de los dominios. Extraído de ¹²⁵.

La expresión de *DUOX* no está restringida solo a la glándula tiroidea, sino que se expresa en otros tejidos como las glándulas salivares, el recto, la tráquea y los bronquios¹²⁷.

La regulación de la expresión de *DUOX2* en cultivos primarios de tirocitos de perro y de cerdo, requiere la actividad de la TSH, que, vía el AMPc, mantiene elevados los niveles de esta enzima¹²⁰. En los tirocitos porcinos, el AMPc también incrementa la cantidad de *DUOX* madura y estimula la actividad NADPH oxidasa, un efecto que se bloquea cuando existe mucho I⁻¹²⁸. Este efecto inhibitorio del I⁻ en la generación de H₂O₂ y así, de la actividad de la TPO, explica como el exceso de I⁻ inhibe su propia organificación (efecto Wolff-Chaikoff)¹²⁹.

Rigutto *et al.*, demostraron en su estudio que los incrementos en la TSH generados por una disminución de hormonas tiroideas en sangre, provocan la liberación de proteínas G_s y G_q, y un aumento en las concentraciones de AMPc, diacilglicerol y calcio, siendo este último el principal activador de la función de *DUOX*. Además, estos autores demostraron que dicha actividad está sostenida por un proceso adicional de fosforilación mediada por la PKA para *DUOX1* y por la PKC para *DUOX2*¹³⁰.

2.4.1.2. DUOXA1/DUOXA2

En el 2006, se identificaron los factores de maduración de las proteínas DUOX, que son DUOXA1 y DUOXA2. La dimerización de DUOX con su DUOXA correspondiente, permite su correcto plegamiento, su salida del retículo endoplasmático y su transporte a la membrana celular. Los genes de DUOXA se localizan en el cromosoma 15, en la región intergénica de *DUOX1* y *DUOX2* y codifican proteínas de cinco dominios transmembrana, con un extremo N-terminal extracelular donde se produce la glicosilación¹³¹.

Estos factores de maduración son cotransportados hacia la membrana celular cuando se coexpresan con sus enzimas maduras correspondientes. En cambio, son retenidas en el retículo endoplasmático cuando se expresan sin ellas. Las parejas DUOX1-DUOXA1 y DUOX2-DUOXA2 producen niveles más altos de H_2O_2 . Los complejos cruzados (DUOXA1-DUOX2 o DUOXA2-DUOX1) son funcionantes, pero no forman complejos estables, produciendo una fuga de superóxido para las oxidasas y, como consecuencia, una menor producción de H_2O_2 . Esto sugiere que los factores madurativos podrían tener una función en el sistema enzimático generador de H_2O_2 ¹³², además de promover la maduración de DUOX.

Aunque DUOXA2 es capaz de dirigir DUOX1 a la membrana celular, DUOX1 es mínimamente activo bajo estas condiciones. El significado biológico de estos complejos heterogéneos es desconocido. En definitiva, podemos afirmar que el sistema DUOX2-DUOXA2 es el principal productor de H_2O_2 en condiciones fisiológicas, pero puede ser suplementado o reemplazado por el complejo DUOX1-DUOXA1 en condiciones patológicas (**Figura 10**)¹²³.

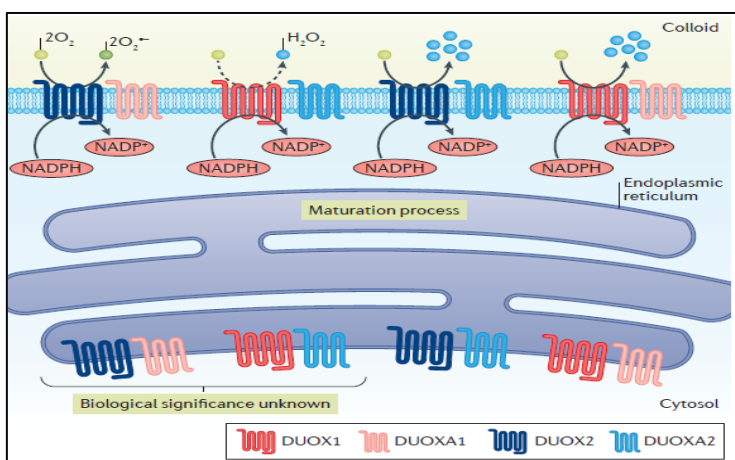


Figura 10. Interacción cruzada de DUOX y sus factores madurativos. Extraído de ¹²³.

Un estudio realizado en ratones demostró que los animales con deficiencia de DUOXA presentaban retención intracelular de las subunidades de DUOX y pérdida de producción de H₂O₂ calcio-dependiente, provocando un hipotiroidismo primario severo por defecto en la organificación del yodo¹³³.

2.4.2. PEROXIDASA TIROIDEA

La peroxidasa tiroidea (TPO) se considera la enzima clave en la hormonogénesis tiroidea. Es la encargada de la oxidación del I⁻, necesaria para la yodación de los residuos tirosínicos de la Tg. Esta enzima también es fundamental para el acoplamiento oxidativo de las yodotirosinas para formar las yodotironinas T4 y T3¹³⁴.

El gen *TPO* se localiza en el cromosoma 2, en la posición 2p25. Este gen está formado por 17 exones y da lugar a múltiples transcritos mediante *splicing* alternativo. La mayor parte del mRNA contiene 17 exones y codifica la proteína TPO1, que es la forma completa de la TPO, una proteína que contiene 933 aminoácidos. La TPO2 es una proteína similar, pero sin la secuencia peptídica de 57 aminoácidos codificada por el exón 10¹³⁵. Posteriormente se han descrito otras variantes que se forman a partir del *splicing* de los exones 16, 14 y 8 y que codifican las proteínas TPO3, TPO4 y TPO5, respectivamente¹³⁶.

La regulación de la expresión del gen *TPO* está controlada por factores de transcripción específicos del tiroides, como son el PAX8, el TITF-1 y el TITF-2 así como por el coactivador p300. Se ha demostrado que los factores PAX8 y TITF-1 actúan de manera sinérgica, y que el coactivador p300 es un mediador crucial para que se produzca este sinergismo¹¹⁵. La TSH también estimula la expresión del gen por la vía del AMPc, aunque no parece que tenga un control directo sobre la actividad enzimática. El I⁻, una vez organificado, ejerce un control negativo en los niveles del mRNA^{137,138}.

La proteína TPO1 consta de 933 aminoácidos y está formada por un dominio extracelular muy largo y unos dominios transmembrana e intracelular más cortos (**Figura 11**). La zona N-terminal es la zona glicosilada y la que contiene el grupo hemo. Esta región de la proteína presenta un alto grado de similitud a tres dominios tridimensionales conocidos: mieloperoxidasa (MPO), proteína controladora del complemento (CCP) y factor de crecimiento epidérmico (EGF)¹³⁹.

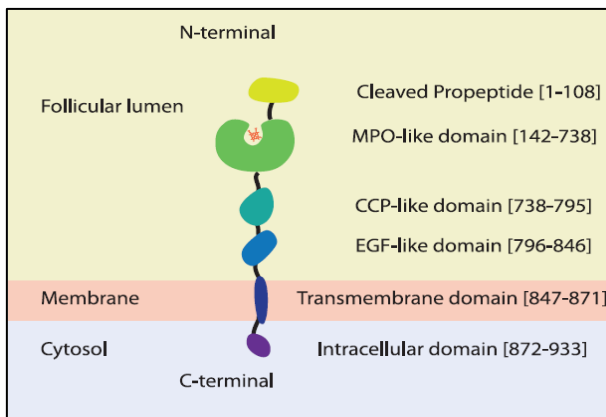


Figura 11. Dominios de la proteína TPO. Extraído de ¹³⁹.

Tanto la TPO1, la TPO3 como la TPO4, son formas que ejercen actividad enzimática. Por el contrario, la TPO2 y la TPO5, no son capaces de alcanzar la membrana plasmática, la primera porque se degrada rápidamente después de su síntesis y la segunda porque no se pliega correctamente, por lo que son formas enzimáticamente inactivas¹³⁵. El papel de las diferentes isoproteínas de la TPO se desconoce en la actualidad, aunque podrían ejercer una función reguladora, ya que se ha observado que la ratio de *splicing* alternativo es mayor en los carcinomas tiroideos comparado con el tejido sano¹⁴⁰.

La proteína TPO madura es una hemoproteína de transmembrana glicosilada. La glicosilación se inicia en el retículo endoplasmático y después se transporta a través de vesículas exocíticas al aparato de Golgi, donde finaliza la glicosilación¹³⁵. La unión covalente del grupo hemo es autocatalítica y requiere H_2O_2 , hecho que pone de manifiesto que el H_2O_2 formado en la membrana apical no solo ejerce su función organificando el I^- , sino que también ayuda a estabilizar la proteína en su forma activa¹⁴¹. Después de la adquisición del grupo hemo y la glicosilación, ya está preparada para ser transportada a la membrana apical del tirocito, donde expone su grupo hemo encarado al lumen folicular¹⁴².

El centro redox de la TPO es el grupo hemo, que en la TPO nativa está en su forma férrica (Fe^{3+}). La molécula de H_2O_2 generada por el sistema DUOX se coloca en el "bolsillo" donde se localiza el grupo hemo, zona donde interactúa para realizar su función. La reacción de la TPO y otras peroxidases con el H_2O_2 es una reacción en la que el grupo hemo dona 2 electrones, con lo que se forma una molécula de H_2O y el complejo 1. Este complejo 1 se reduce en la TPO nativa removiendo 2 electrones del I^- , proceso que conlleva a la formación de I^+ o IOH, las cuales son formas muy reactivas de yodo y son las que se pueden unir a los residuos tirosínicos de la Tg⁹¹

En la **Figura 12** se muestra el proceso de organificación del yodo, donde actúa el sistema generador de H_2O_2 tiroideo (DUOX y sus factores madurativos) y la enzima TPO. El I^- en su forma oxidada (I) se une a la Tg para formar las yodotirosinas y, después del acople de estas, las hormonas tiroideas T3 y T4¹²⁴.

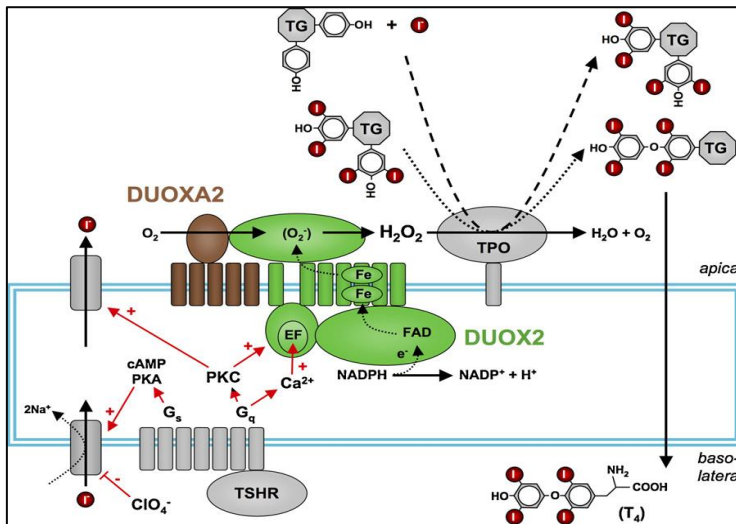


Figura 12. Organificación del I^- . Extraído de ¹²⁴.

2.5. FORMACIÓN DE YODOTIROSINAS Y REACCIÓN DE ACOPLAMIENTO

La Tg codifica jerárquicamente los residuos de tirosina, que se clasifican según su preferencia para ser monoyodados, diyodados y acoplados para formar yodotironinas usando sitios donadores y aceptores en posiciones específicas de la estructura tridimensional de la proteína¹⁶.

La reacción enzimática de yodación, solo ocurre en aproximadamente 25-30 de los 132 residuos tirosínicos que contiene un dímero de Tg. Dentro de la molécula de Tg hay secuencias hormogénicas en las que los se residuos tirosínicos se yodan y se acoplan de manera preferente. Se han identificado las posiciones 5, 1291, 2554, 2568 y 2747 como aceptores hormogénicos tirosínicos¹¹⁴. La tirosina 5 es el residuo más eficiente para formar T4 en la mayoría de las especies, siendo el primero en ser yodado en el modelo murino, mientras que el 2747 es el más eficiente para la formación de T3. También se han identificado los residuos donadores principales en la Tg humana, que son los 130, 847 y 1448. El residuo tirosínico 130 es el principal donador para la formación de T4 en la posición aceptora 5¹⁶.

La yodación de la Tg da lugar a las yodotirosinas MIT (3- monoyodotirosina) y DIT (3,5- diyodotirosina). MIT se forma cuando la Tg incorpora una molécula de yodo y DIT cuando incorpora dos⁹⁰.

La síntesis de T3 y T4 se realiza mediante la transferencia de un grupo yodofenil desde una MIT o DIT donadora a un residuo DIT aceptor.

Residuos DIT seleccionados actúan como unidades hormonogénicas funcionales, permitiendo que otro DIT donador transfiera su grupo yodofenil mediante un enlace quinol-eter a un DIT aceptor, el cual actúa como lugar de formación para la 3,5,3',5'-tetrayodotironina o T4. El acoplamiento análogo de un donador MIT con un DIT aceptor, lleva a la formación de 3,5,3'-triyodotironina o T3⁹⁰. El acoplamiento de una tirosina no yodada donadora a un DIT aceptor, resulta en la formación de 3,5-diyodotironina o T2, hormona que no se considera activa, aunque hay controversia por lo que respecta a sus efectos sobre el peso corporal y la adiposidad¹⁴³. Cualquier acoplamiento desfavorable de un donador DIT a un aceptor MIT genera 3,3',5'-triyodotironina o T3 reversa. Esta hormona, que solo supone el 0,9% del total de hormonas tiroideas circulantes, también se puede formar a partir de la desyodación de T4 por las deyodinasas (**Figura 13**)⁹⁰.

La formación del quinol-eter requiere con anterioridad la oxidación monovalente de los residuos donadores y aceptores de las yodotirosinas, proceso en el cual parece estar implicada la enzima TPO⁹¹. Sin embargo, se ha observado que cuando la Tg se yoda *in vitro*, genera un nivel de yodación de sus residuos similar al que se genera *in vivo*, hecho que indica que la formación de hormonas se codifica principalmente en el sustrato estructural de la Tg, más que a través de un proceso enzimático específico mediado por la TPO¹⁶.

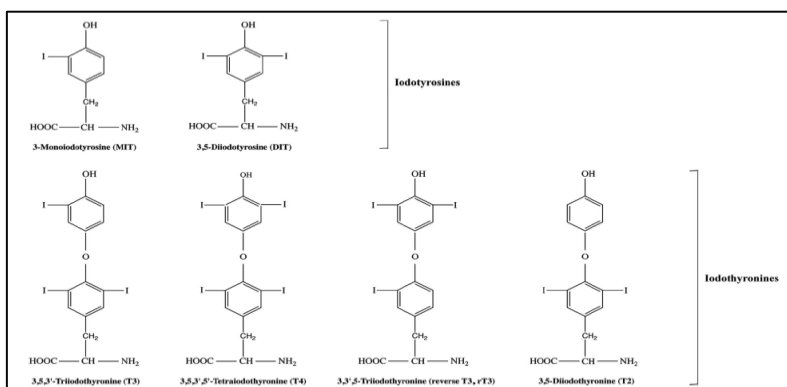


Figura 13. Estructura yodotirosinas y yodotironinas. Extraído de ⁹⁰.

2.6. RECICLAJE DEL YODO

La Tg yodada, que transporta T4, T3, DIT y MIT, se almacena en el lumen folicular de la célula tiroidea. Las hormonas tiroideas, antes de ser liberadas a la circulación sanguínea a través de la membrana basolateral, se deben separar de la Tg mediante proteólisis.

La proteólisis de la Tg, libera T4 y T3, pero, además, las yodotirosinas MIT y DIT. Aunque la cantidad de yodotirosinas en la Tg es mucho mayor que la de yodotironinas, estas se liberan a la circulación sanguínea en muy escasas proporciones. Estas yodotirosinas son desyodadas en el tirocito con el fin de generar una sustancial fuente de I⁻ intratiroidal y así reutilizarlo para una nueva síntesis de hormonas tiroideas. El reciclaje del yodo es un sistema complejo que la glándula tiroidea ha generado para reducir la pérdida de un elemento que es usualmente escaso¹⁰⁷.

2.6.1. DEHAL1 (IYD)

La yodotirosina deshalogenasa 1 (DEHAL1 o IYD) es la enzima responsable del reciclaje del I⁻ y actúa a través de la desyodación de MIT y DIT. Esta acción es muy importante porque genera una gran fuente de yodo intratiroideo que se puede reutilizar para la síntesis de hormonas tiroideas.

La proteína DEHAL1 pertenece a la familia de las NADPH oxidasa/flavin reductasas, su secuencia está altamente conservada entre mamíferos y tiene un alto nivel de homología con las NADPH reductasas bacterianas¹⁴⁴.

El gen *DEHAL1* se encuentra en el cromosoma 6q24-q25, contiene 5 exones y codifica una proteína de 289 aminoácidos que contiene un dominio nitroreductasa.

DHEAL1 se expresa mayoritariamente en el tejido tiroideo, pero también, con mucha menos intensidad, en el riñón y la tráquea.

La proteína DEHAL1 se encuentra de forma predominante en la membrana apical de los tirocitos, con su dominio catalítico encarado hacia la superficie extracelular de dicha membrana. Este hecho sugiere que esta enzima realiza un rápido reciclaje del yodo muy cerca del lugar donde este se organifica.

La reacción de desyodación ocurre durante la proteólisis de la Tg, antes y durante su endocitosis. Después de la endocitosis, DEHAL1 se encuentra en cara interna de las membranas lisosómicas. Su acción es NADPH dependiente y tiene mayor actividad en MIT que en DIT¹⁴⁵.

La importancia del reciclaje del yodo se confirmó cuando se demostró que mutaciones homocigotas en el gen *DEHAL1* causaban bocio con deficiencia relativa de yodo^{146,147}.

2.7. LIBERACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS HORMONAS ACTIVAS

2.7.1. SECRECIÓN DE LAS YODOTIRONINAS T3 Y T4

La secreción de las hormonas tiroideas a la circulación sanguínea se inicia con el transporte de la Tg almacenada en el lumen folicular hacia el interior del tirocito y su posterior proteólisis.

La proteólisis de la Tg puede ocurrir en el exterior o interior del tirocito a través de catepsinas que se localizan en el espacio extracelular del plasma apical o dentro del sistema endolisosomal del tirocito⁹¹.

La endocitosis de la Tg se efectúa a través de micro y macro pinocitosis en la membrana apical de la célula. La mayoría de la Tg se internaliza por una endocitosis de fase fluida, pero también a través de endocitosis mediada por receptores como la megalina, que se encargaría del transporte de las moléculas de Tg con menos índice de yodación¹⁴⁸.

Estas vesículas endocíticas se fusionan con los lisosomas, de manera que se forman los fagolisosomas, donde la proteólisis de la Tg ocurre a un pH bajo a través de endopeptidasas, catepsinas y exopeptidasas a la vez que se van desplazando hacia el lado basolateral de la célula⁹¹.

Los productos proteolíticos de la Tg son MIT, DIT, T3, T4 y en menor cantidad otras yodotironinas y aminoácidos⁹¹. Dentro del espacio intracelular, la T4 puede ser desyodada para formar T3 a través de la desyodasa 2, por lo que la cantidad de T3 que se libera depende de su contenido en la Tg, pero también de la actividad de esta enzima¹⁴⁹.

La TSH estimula tanto la endocitosis como la actividad de las enzimas desyodadas, incrementando así la secreción de hormonas tiroideas.

Las yodotirosinas MIT y DIT son desyodadas por *DEHAL1* y las yodotironinas T3 y T4 se secretarán a la circulación sanguínea a través de la membrana basolateral mediante transportadores, de los cuales el MCT8 parece ser el más importante⁹¹.

2.7.2. MCT8

El transportador más importante es el MCT8, que participa en la entrada y salida de hormonas tiroideas de las células y está implicado en la liberación de dichas hormonas de la glándula tiroidea a la circulación sanguínea¹⁵⁰.

Este transportador es específico para las hormonas tiroideas¹⁵¹ y se ha identificado su expresión en el riñón, cerebro, hígado y corazón¹⁵².

Se ha descrito que mutaciones con pérdida de función del gen *MCT8* causan alteraciones severas del desarrollo psicomotor, un trastorno ligado al X que se conoce como síndrome de Allan-Herndon-Dudley¹⁵². Los pacientes varones, además, presentan alteraciones en los niveles de hormonas tiroideas (T4 disminuida y T3 elevada)¹⁵³.

El gen *MCT8* se localiza en el cromosoma Xq13.2, contiene 6 exones y codifica una proteína de 539 aminoácidos con 12 dominios transmembrana¹⁵³.

En la **Figura 14** encontramos representado de forma esquemática el proceso de la biosíntesis de las hormonas tiroideas.

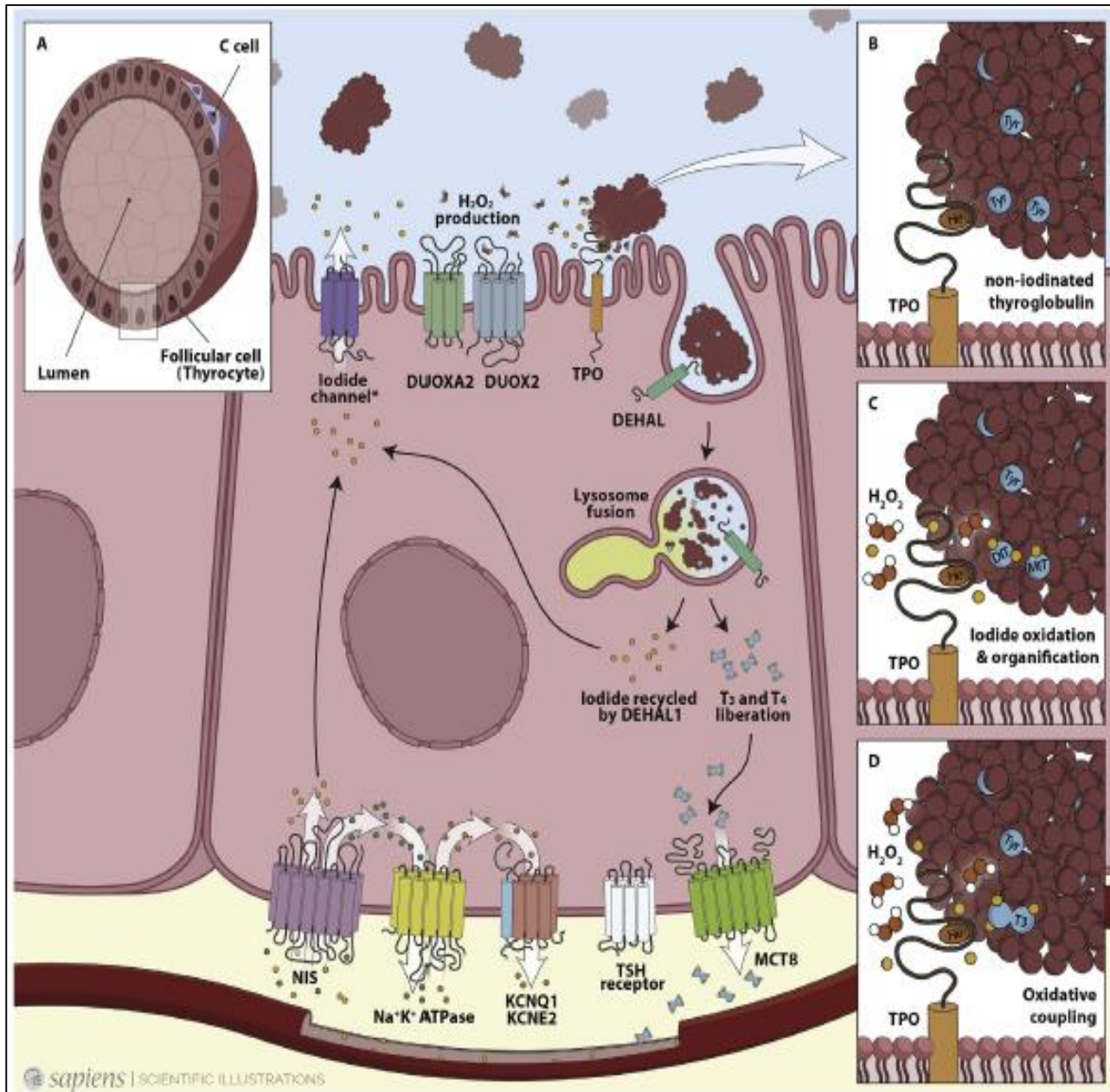


Figura 14. Biosíntesis de las hormonas tiroideas. Transporte de I^- : en la membrana basolateral se muestran los transportadores NIS y KCNQ1 y KCNE2, así como la ATPasa, encargados de captar el I^- . En la membrana apical, el canal de I^- que se encarga del eflujo de I^- , que correspondería a pendrina, CIC-5 y ANO1. Las aglomeraciones de redondas granates corresponden a moléculas de TG. Organización del I^- : en la membrana apical se muestra el sistema generador de H_2O_2 DUOX/DUOXA y TPO que intervienen en la yodación de los residuos tirosínicos de la Tg (Tyr) para formar MIT y DIT (1C). Reacción de acoplamiento: TPO interviene en el acoplamiento de MIT y DIT para formar T3 y T4 (1D). Reciclaje del I^- : DEHAL1 actúa a nivel apical y lisosómico. Secreción de yodotironinas: T3 y T4 pasan a la circulación sanguínea a través de MCT8. Extraído de ⁹¹.

2.8. REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS

2.8.1. RECEPTOR DE LA TSH

La TSH controla la función y el crecimiento de la glándula tiroidea mediante la regulación de los niveles intracelulares de AMPc a través de la unión con su receptor (TSHR).

El gen *TSRH* se localiza en el cromosoma 14q31. Su tamaño es de 60 Kb y comprende 10 exones. El dominio extracelular del receptor está codificado por 9 exones, mientras que un solo exón codifica toda la región transmembrana y el dominio intracelular¹⁵⁴.

El TSHR es una cadena glicoproteica de 744 aminoácidos, que se ubica en la membrana basolateral del tirocito. Al igual que los receptores para las hormonas luteinizante (LH), gonadotrofina coriónica (HCG) y folículo estimulante (FSH), el receptor de TSH es miembro de una familia de receptores acoplados a la proteína G. El TSHR tiene 7 dominios transmembrana, una larga porción amino-terminal que es extracelular y una porción carboxi-terminal corta intracelular^{7,155} (**Figura 15**).

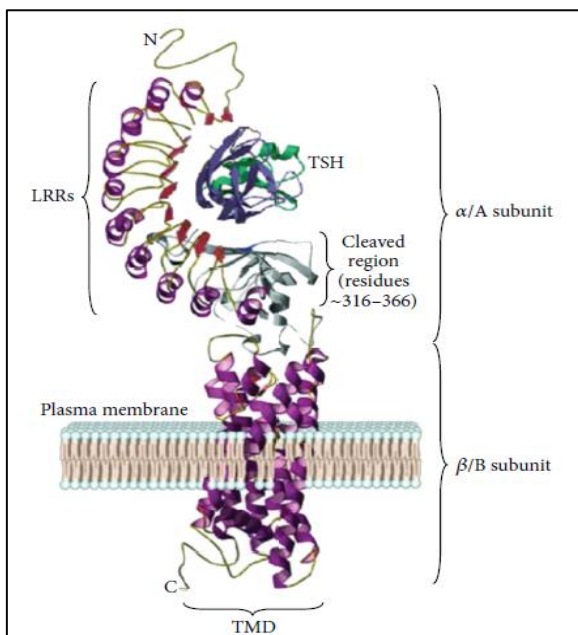


Figura 15. Estructura del TSHR. Extraído de¹⁵⁵.

El TSRH experimenta dos cambios post traslacionales importantes una vez se encuentra en la membrana celular: proteólisis en 2 subunidades ($TSRH_{\alpha}$ y $TSRH_{\beta}$), que se mantienen unidas mediante uniones covalentes, y creación de formas oligoméricas¹⁵⁶.

La proteína G es el intermediario que cumple la función de transducción entre el receptor y la activación de la adenilciclase. La activación funcional de este receptor a través de la unión de la TSH induce la disociación de un trímero de proteínas: G_{α} , G_{β} y G_{γ} (proteína G_s). Estas proteínas están localizadas, junto a los receptores, en el lado citoplasmático de la membrana celular. La separación de la subunidad α del complejo $\beta\gamma$ permite que la primera pueda estimular la adenilciclase, también en la membrana, lo que conducirá a un aumento intracelular de AMPc¹⁵⁷.

La activación de la vía TSH/TSHR es un desencadenante para la expresión de genes como *TG*, *TPO* y *NIS*, los cuales codifican proteínas que actúan en la síntesis de las hormonas tiroideas. Como la expresión de estos genes depende, al menos en parte, de la presencia de factores de transcripción como TITF1, TITF2 y PAX8, es posible que la vía TSH/TSHR actúe a través de estos últimos¹³⁷.

2.8.2. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN TIROIDEOS

El desarrollo embriológico de la glándula tiroidea y su migración dependen de la interacción de varios factores de transcripción: TITF-2/FOXE1, TITF-1/NKX2-1 y PAX8.

Cada uno de estos factores de transcripción se expresa en otros tejidos adultos humanos, pero solo se expresan de manera conjunta en las células tiroideas foliculares²¹.

La expresión coordinada de los factores de transcripción TITF-2/FOXE1, TITF-1/NKX2-1 y PAX8 es esencial para mantener la función tiroidea en la glándula diferenciada, siendo elementos clave para la síntesis y la secreción de las hormonas tiroideas¹⁵⁸.

2.8.2.1. TITF-2 (FOXE1)

El factor de transcripción tiroideo 2, también llamado FOXE1, regula la expresión de genes específicos tiroideos y es esencial para la formación de la glándula y su migración, siendo el principal implicado en una red de factores de transcripción y cofactores que inician la diferenciación del tejido tiroideo¹⁵⁹.

El TITF-2 es un miembro de la familia FOX, y tiene la capacidad de interactuar con los nucleosomas a través de su dominio hélice-bucle-hélice y de alterar la estructura de la cromatina, creando un dominio expuesto que es necesario para la acción de otros factores de transcripción¹⁵⁹.

También es un elemento muy importante para el mantenimiento de la glándula diferenciada, porque es esencial para regular la expresión de otros genes específicos del tiroides. Esta proteína reconoce las secuencias promotoras de los genes *TG* y *TPO*, regulando su expresión bajo la estimulación de la TSH²².

El gen *TITF-2* se localiza en el cromosoma 9q22 y contiene un solo exón. Los estudios en animales han demostrado que este gen tiene un papel crítico en el desarrollo embriológico del tiroides, ya que ratones *knockout* homocigotos presentan disgenesia tiroidea grave⁷.

2.8.2.2. TITF-1 (NKX2-1)

El factor de transcripción tiroideo 1, también llamado NKX2-1, es un factor de transcripción *homeobox* que pertenece a la familia de los genes *NK-2* y que juega un papel importante en el desarrollo de la glándula tiroidea y en el control transcripcional de genes implicados en la función del tiroides diferenciado¹⁶⁰.

La función principal de TITF-1 en el tirocito maduro es activar la transcripción de genes específicos del tiroides como *TG* y *TPO*. Parece que esta proteína actúa de manera sinérgica con el factor de transcripción PAX8¹⁶⁰.

El gen que codifica la Tg fue el primero que se identificó como objetivo transcripcional de TITF-1¹⁶¹. Se ha demostrado que TITF-1 es el principal mediador de la respuesta del gen *TPO* al estímulo de la TSH¹⁶². Aunque habitualmente TITF-1 promueve la activación transcripcional de los genes *TG* y *TPO*, también puede actuar como regulador represor de ambos²².

Un estudio reciente en el que se realizó un análisis genómico en células de tejido tiroideo folicular murino concluyó que los genes *NIS* y *DUOX2* también presentan regiones reguladoras en las que TITF-1 podía actuar como promotor¹⁵⁸.

Se han identificado otros genes en los roedores adultos que se regulan por TITF-1, entre los que se incluyen *TSRH* y *SLC26A4*²¹.

Este gen se localiza en el cromosoma 14q13, contiene 3 exones y codifica una proteína de 42 kDa⁷.

Mutaciones heterocigotas en este gen se asocian con patología mixta que incluye HC, distrés respiratorio y anomalías neurológicas¹⁶³.

2.8.2.3. PAX8

PAX8 es un factor de transcripción de la familia de proteínas PAX (*paired box*) que juega un papel importante en el desarrollo de la glándula tiroidea, en el momento de su evaginación desde el suelo de la faringe y durante su migración caudal¹⁶⁴.

El factor de transcripción *paired box 8* es la proteína codificada del gen *PAX8*, que se localiza en el cromosoma 2q12-q14. Su estructura contiene 12 exones, de los cuales, su codón de inicio está en el exón 2, los exones 3,4 y el extremo 5' del exón 5 codifican un dominio de unión al DNA (*paired box domain*) mientras que los exones 10 y 11 codifican un dominio de activación transcripcional¹⁶⁵.

PAX8 reconoce secuencias específicas de DNA a través de un dominio *paired box* de 128 aminoácidos, que ha permanecido altamente conservado durante la evolución de las especies¹⁶⁴.

Este factor de transcripción es esencial para la activación de la transcripción de los genes *TG*, *TPO* y *NIS*¹⁶⁶. Su secuencia de unión se solapa parcialmente con la secuencia de unión de TITF-1 en los promotores *TG* y *TPO*¹⁶⁷. PAX8 y TITF-1 actúan activamente de forma sinérgica en la transcripción del gen *TG*, efecto que no se ha observado sobre el gen *TPO*¹⁶⁸.

Se ha demostrado que el gen *TPO* en particular, es altamente dependiente de PAX8, por lo que la expresión reducida de *TPO* secundaria a alteraciones en PAX8 podría explicar defectos parciales en la organificación del yodo⁷.

Se ha demostrado que también actúa regulando la expresión del factor de transcripción TITF-1, TITF-2 y de la oxidasa DUOX2¹⁶⁹, aunque los estudios respecto a la contribución de PAX8 sobre esta última, son contradictorios¹⁷⁰.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

La expresión clínica de las DT es muy amplia, con formas clínicas que van desde el hipotiroidismo subclínico hasta el desarrollo de bocio. Muchos de los pacientes diagnosticados de HC en el cribado neonatal presentan un perfil sugestivo de dishormonogénesis, en base a criterios clínicos, hormonales y gammagráficos, pero pocos estudios han analizado sistemáticamente el defecto molecular en estos pacientes.

Se han descrito un número elevado de genes asociados a la regulación de la síntesis de hormonas tiroideas, pero en muchos pacientes con estas patologías no se ha identificado todavía un defecto molecular causal.

El diagnóstico genético mediante la implementación de las técnicas moleculares de secuenciación masiva o *Next Generation Sequencing* (NGS) a todos los pacientes con sospecha de DT diagnosticados en el cribado neonatal del HC, sería de gran interés para:

- Establecer su diagnóstico clínico definitivo.
- Orientar el pronóstico, así como el carácter transitorio o definitivo del hipotiroidismo.
- Adecuar el tratamiento según el defecto molecular, dado que los defectos en *SLC26A4*, *IYD*, *DUOX2*, *DUOX2A2* y *SLC5A5* podrían ser tratados con suplementos de yodo en lugar de LT4.
- Realizar un asesoramiento genético a los pacientes afectados y sus familias y, a su vez, contribuir a un diagnóstico y tratamiento más precoz del hipotiroidismo en la descendencia futura.
- Determinar cambios sustanciales en los procedimientos diagnósticos utilizados para orientar su etiología y así evitar la práctica de procedimientos invasivos para el paciente, como la gammagrafía tiroidea con ¹²³I y el test de descarga con perclorato, que actualmente se efectúan de forma rutinaria en la reevaluación diagnóstica.

Asimismo, este proyecto de investigación también podría contribuir a:

- Ampliar nuestro conocimiento de las bases moleculares implicadas en la DT.
- Mejorar nuestro conocimiento de la relación fenotipo-genotipo en estos pacientes.
- Definir el posible origen oligogénico de estos trastornos.
- Contribuir a la descripción potencial de nuevos genes implicados en la DT en aquellos pacientes con HC permanente y estudio genético negativo mediante estudio de exoma.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio son los siguientes:

1. Formar una cohorte de pacientes con sospecha de DT procedentes del programa de cribado neonatal del HC.
2. Diseñar y validar paneles de secuenciación masiva para los genes implicados en la DT.
3. Analizar molecularmente pacientes con sospecha de DT mediante dichos paneles.
4. Definir la relación genotipo-fenotipo de las DT (perfil de hormonas tiroideas, patrón de captación gammagráfico y respuesta al test de perclorato) con las variantes observadas.
5. Determinar la posible existencia de una base genética oligogénica en las DT.
6. Determinar posibles factores predictivos de la evolución de la enfermedad.

PACIENTES Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio longitudinal, retrospectivo y observacional de una cohorte de pacientes con sospecha de DT. Este estudio está aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitari Vall d'Hebron (HUVH).

2. SUJETOS DEL ESTUDIO

Se incluyeron un total de 70 pacientes con sospecha de DT procedentes del programa de cribado neonatal de HC de Cataluña y que se atendieron en la Unidad de Endocrinología Pediátrica del HUVH entre los años 2001 y 2017. Los pacientes procedieron de este mismo centro, que es centro de referencia para el diagnóstico y tratamiento del HC en Cataluña, y de otros centros hospitalarios nacionales con Unidad de Endocrinología Pediátrica, mayoritariamente de Cataluña.

Criterios de inclusión

Se debían cumplir los dos siguientes criterios:

- a. Pacientes con niveles de TSH superiores a 10 mUI/L en la muestra extraída en el momento de la confirmación diagnóstica del hipotiroidismo.
- b. Pacientes con estudio gammagráfico y/o ecográfico sugestivo de DT.

Criterios de exclusión

- a. Pacientes con niveles de TSH inferiores a 10 mUI/L en la muestra extraída en el momento de la confirmación diagnóstica del hipotiroidismo.
- b. Pacientes afectos de agenesia o ectopia tiroidea diagnosticadas mediante gammagrafía y/o ecografía tiroidea.

3. PROCEDIMIENTOS

3.1. EVALUACIÓN CLÍNICA

Todos los recién nacidos con sospecha de HC fueron remitidos a la Unidad de diagnóstico y tratamiento del HC del HUVH con carácter urgente y se sometieron a un protocolo de estudio riguroso para confirmar el diagnóstico bioquímico de hipotiroidismo y conocer la presencia y localización de la glándula tiroidea.

La metodología de recogida de datos y seguimiento clínico de los pacientes se realizó revisando las historias clínicas de cada uno de los participantes del estudio. Se incluyeron datos clínicos, de laboratorio y de imagen.

3.1.1. DATOS CLÍNICOS

3.1.1.1. DATOS CLÍNICOS PERINATALES

Personales

- Sexo y origen.
- Peso al nacimiento, expresado en gramos y en desviaciones estándar (DE) según la edad gestacional (referencias Estudios Españoles de Crecimiento 2010, www.estudiosdecrecimiento.es).
- Longitud al nacimiento, expresada en centímetros y en DE según la edad gestacional (referencias Estudios Españoles de Crecimiento 2010)
- Perímetro cefálico al nacimiento, expresado en centímetros y en DE (referencias Libro: Ferrández Longás A, Bager L, Labarta-Aizpún JI, *et al.* Estudio longitudinal de niños españoles normales desde el nacimiento hasta la edad adulta. Fundación Adrea Prader. 2005).
- Edad a la primera visita al hospital, expresada en días de vida.
- Tratamiento sustitutivo al diagnóstico (sí o no).
- Dosis de LT4 al diagnóstico, expresada en mcg/kg/día.

Familiares

- Antecedentes familiares de hipotiroidismo.

3.1.1.2. DATOS CLÍNICOS DE SEGUIMIENTO

- Peso a los 12 meses, 2 y 4 años de edad, expresado en kilogramos.
- Talla a los 12 meses, 2 y 4 años de edad, expresada en centímetros.
- Tratamiento sustitutivo a los 12 meses, 2 y 4 años de edad (sí o no).
- Dosis de LT4 a los 12 meses, 2 y 4 años de edad, expresada en mcg/kg/día.
- Reevaluación diagnóstica (sí o no).

Para realizar esta reevaluación, se suspendió el tratamiento sustitutivo durante 1 mes, después del cual se realizó un estudio hormonal del eje tiroideo y un test de descarga con perclorato.

- Edad a la reevaluación diagnóstica, expresada en años.
- Diagnóstico a la reevaluación diagnóstica.

Los diagnósticos después de la reevaluación se clasificaron, según los resultados de la funcionalidad tiroidea, de la siguiente manera:

- TSH > 10 mU/L, FT4 < 0.8 ng/dL: HC definitivo severo
 - TSH > 10 mU/L, FT4 > 0.8 ng/dL: HC definitivo leve
 - TSH < 5 mU/L, FT4 > 0.8 ng/dL: HC transitorio
 - TSH 5-10 mU/L, FT4 > 0.8 ng/dL: hipertirotropinemia
- Reinicio del tratamiento sustitutivo después de la reevaluación diagnóstica (sí o no).
- Edad al finalizar el estudio, expresada en años.
- Tratamiento sustitutivo al finalizar el estudio (sí o no).
- Dosis de LT4 al finalizar el estudio, expresada en mcg/kg/día.

3.1.2. DATOS ANALÍTICOS

- **Valores de TSH en la prueba de cribado neonatal, expresados en mUI/L**

Las muestras procedentes del cribado neonatal se analizaron en el Hospital Clínic de Barcelona. Se realizó una determinación cuantitativa de la TSH en las muestras de sangre seca en papel de filtro utilizando el sistema automático de inmunoensayo 1235AutoDELFI[®]. Se trata de un ensayo en fase sólida fluoroinmunométrico, basado en la técnica directa del sándwich, en la que dos anticuerpos monoclonales (derivados del ratón) se dirigen contra dos determinantes antigénicos distintos de la molécula de TSH. Los estándares, los controles y las muestras que contengan TSH se hacen

reaccionar simultáneamente con los anticuerpos monoclonales inmovilizados, dirigidos contra un sitio antigénico específico de la subunidad β de la TSH, y los anticuerpos monoclonales marcados con europio (dirigidos contra un sitio antigénico diferente localizado parcialmente en la subunidad β y parcialmente en la subunidad α) en el tampón del ensayo. La solución tampón del ensayo eluye la TSH de las manchas de sangre secas en los discos de papel de filtro. Una solución intensificadora disocia los iones de europio del anticuerpo marcado en una solución donde éstos forman, con los componentes de dicha solución, quelatos altamente fluorescentes. A continuación, se mide la fluorescencia en cada pocillo. La fluorescencia producida en cada muestra es proporcional a la concentración de TSH de la muestra analizada.

▪ **Valores de TSH, expresados en mUI/L**

Se midieron los valores de TSH en los siguientes momentos: en la primera visita (confirmación diagnóstica), a los 12 meses, a los 2 y 4 años de edad y en la reevaluación diagnóstica.

El análisis se realizó mediante un test de quimioluminiscencia (TSH3-Ultra de ADVIA Centaur®). El ensayo TSH3-Ultra de ADVIA Centaur® es un ensayo de tercera generación que utiliza un anticuerpo monoclonal anti-FITC (isotiocianato de fluoresceína) unido de forma covalente a partículas paramagnéticas, un anticuerpo de captura monoclonal anti-TSH marcado con FITC, y un trazador que está formado por éster de acridinio y un anticuerpo mAb anti-TSH conjugado a seroalbúmina bovina (BSA) para la detección por quimioluminiscencia. Existe una relación directa entre la cantidad de TSH presente en la muestra del paciente y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema.

▪ **Valores de FT4, expresados en ng/dL**

Se midieron los valores de FT4 en los siguientes momentos: en la primera visita (confirmación diagnóstica), a los 12 meses, a los 2 y 4 años de edad y en la reevaluación diagnóstica.

El análisis se realizó mediante un test de quimioluminiscencia (FT4 de ADVIA Centaur®). El ensayo FT4 de ADVIA Centaur® es un inmunoensayo competitivo que utiliza tecnología de quimioluminiscencia directa. La FT4 presente en la muestra del paciente

compite con la T4 marcada con éster de acridinio presente en el reactivo por una cantidad limitada de anticuerpo policlonal biotinilado anti-T4 de conejo. El anticuerpo anti-T4 marcado con biotina se une a avidina, que está unida de forma covalente a partículas paramagnéticas de la fase sólida. Existe una relación inversa entre la cantidad de FT4 presente en la muestra del paciente y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema.

▪ **Valores de Tg, expresados en ng/mL**

Se midieron los valores de Tg en los siguientes momentos: en la primera visita (confirmación diagnóstica), a los 12 meses, a los 2 y 4 años de edad y en la reevaluación diagnóstica.

El análisis se realizó mediante un test de electroquimioluminiscencia (Elecsys® Tg II – Cobas®). Este test se basa en la técnica de sándwich. En primer lugar, un anticuerpo monoclonal biotinilado específico de la Tg y anticuerpos monoclonales específicos de la Tg marcados con un complejo de rutenio, reaccionan para formar un complejo sándwich. Posteriormente, después de incorporar micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina. Por último, la mezcla de la reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.

▪ **Anticuerpos TgAb, clasificados en positivos y negativos**

Se analizaron en los pacientes con antecedentes maternos de hipotiroidismo.

El análisis se realizó mediante el ensayo anti-Tg de ADVIA Centaur®. Se trata de un inmunoensayo competitivo que utiliza tecnología de quimioluminiscencia directa. El autoanticuerpo frente a la Tg presente en la muestra del paciente compite con el anticuerpo policlonal humano TgAb unido al anticuerpo policlonal anti-humano de cabra que se encuentra unido de forma covalente a partículas paramagnéticas de la fase sólida por una cantidad limitada de Tg humana marcada con éster de acridinio presente en el reactivo lumínico.

Existe una relación inversa entre la cantidad de anticuerpos TgAb presentes en la muestra del paciente y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema.

▪ **Anticuerpos TPOAb, clasificados en positivos o negativos**

Se analizaron en los pacientes con antecedentes maternos de hipotiroidismo.

El análisis se realizó mediante el ensayo anti-TPO de ADVIA Centaur®. Se trata de un inmunoensayo competitivo que utiliza tecnología de quimioluminiscencia directa. El autoanticuerpo frente a la TPO presente en la muestra del paciente compite con el anticuerpo monoclonal TPOAb de ratón, que está unido de forma covalente a partículas paramagnéticas de la fase sólida, por una cantidad limitada de TPO humana que forma un complejo con el anticuerpo monoclonal de ratón TPOAb marcado con éster de acridinio presente en el reactivo lumínico. Existe una relación inversa entre la cantidad de anticuerpos TPOAb presentes en la muestra del paciente y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema.

3.1.3. EXPLORACIONES DE IMAGEN

▪ **Gammagrafía tiroidea**

Se realizó en la primera visita, siempre antes de iniciar el tratamiento sustitutivo.

Las gammagrafías tiroideas realizadas a los pacientes del estudio se efectuaron en el servicio de Medicina Nuclear del HUVH. Para su realización se administraron 0,5 mCi de pertecnetato endovenoso (^{99m}Tc) y se obtuvieron imágenes en la gammacámara 30 minutos después. Se obtuvieron detecciones cervicales, anteriores y laterales, incluyendo la zona mandibular. Los resultados de la gammagrafía tiroidea se clasificaron en:

- Glándula bilobulada de localización eutópica y captación normal
- Glándula bilobulada de localización eutópica y baja captación
- Glándula bilobulada de localización eutópica y alta captación
- Ausencia total de captación glandular

- **Ecografía tiroidea**

Se realizó en los casos de ausencia de captación tiroidea en la gammagrafía, para confirmar así la ausencia o presencia de tejido tiroideo.

Las ecografías tiroideas se efectuaron en el servicio de Radiología Pediátrica del HUVH. En caso de confirmar la presencia de tejido tiroideo, se definió el tamaño, la morfología y la estructura de la glándula.

- **Test de descarga con perclorato**

Se realizó en el momento de la reevaluación diagnóstica, después de que los pacientes permanecieran un mes sin tratamiento sustitutivo. En el caso de disponer de estudio genético definitivo en el momento de la reevaluación diagnóstica, se obvió esta exploración.

Los test de descarga de perclorato se efectuaron en el servicio de Medicina Nuclear del HUVH. Para realizar este test, primero se administró el radiotrazador ¹²³I a los pacientes y se obtuvieron imágenes tiroideas cervicales anteriores a las 2 horas de su administración. Inmediatamente después, se administraron 500 mg de perclorato sódico vía oral y se obtuvieron nuevas imágenes tiroideas a los 30 y 60 minutos posteriores a su administración, con las que se cuantificó el porcentaje de aclaramiento tiroideo respecto a la imagen basal (reducción de la radioactividad acumulada). Los resultados de esta prueba se clasificaron de la siguiente manera:

- Aclaramiento $\leq 10\%$: test negativo
- Aclaramiento 10-90%: defecto parcial de la organificación
- Aclaramiento $\geq 90\%$: defecto total de la organificación

3.2. EVALUACIÓN GENÉTICA

3.2.1. DATOS GENÉTICOS EVALUADOS

En cuanto a los datos genéticos obtenidos en la evaluación genética, los pacientes se clasificaron según:

- Número de genes afectados: DT monogénica, DT digénica.
- Variantes alélicas encontradas: homocigosis (misma variante en ambos alelos), heterocigosis (una sola variante en uno de los alelos), heterocigosis compuesta (dos variantes distintas, cada una de ellas en un alelo distinto).

En los casos en que fue posible, se realizó estudio genético molecular a los progenitores. Los resultados de este estudio de cosegregación se clasificaron de la siguiente manera:

- Portador con función tiroidea normal
- Portador con función tiroidea alterada
- No portador

3.2.2. METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS GENÉTICO

Para el análisis molecular, se recogió una muestra de sangre (4 ml, tubo EDTA) de cada uno de los pacientes y posteriormente se realizó la extracción de DNA mediante el equipo automático chemagic™ 360 (Perkin-Elmer).

Se diseñaron dos paneles NGS que incluyeron todos los genes implicados en el HC que se conocían hasta el momento en que se realizó el diseño. Cuando con el primer panel, llamado “panel básico” o DT I, no se llegó al diagnóstico molecular, se analizaron las muestras utilizando el “panel ampliado”, que incluía los genes que se han asociado con HC de manera más reciente.

- **PANELES NGS DE GENES RELACIONADOS CON EL HC**

- 1. Panel Básico (DT I)**

El panel NGS denominado “básico” o DT I (GeneRead, Qiagen, EEUU) incluyó los reactivos necesarios para el análisis molecular de los principales genes implicados en la regulación de la hormonogénesis tiroidea: *TSHR*, *SLC5A5*, *TPO*, *DUOX2*, *DUOXA2*, *TG*, *IYD*, *SLC26A4* y *PAX8*.

Para su diseño específico se utilizó la herramienta GeneRead DNaseq Custom Builder de Qiagen (<https://www.qiagen.com/es/shop/genes-and-pathways/custom-products/custom-array-products/generead-designer/>). La estrategia utilizada se basó en la obtención de una mezcla de 353 amplicones (con un tamaño medio de 200 pares de bases, cobertura de +/- 10 nucleótidos de la zona de unión exón-intrón) que incluían la secuencia de los exones y de las regiones intrónicas adyacentes de los genes de interés, obteniéndose una cobertura total teórica cercana al 100% de la secuencia diana.

La preparación de las librerías previa a la secuenciación incluyó diversas etapas: amplificación inicial por PCR de los genes a analizar, reparación de extremos de los amplicones obtenidos, adición de poliA, e indexado de las muestras con una pareja de *primers* específica para cada una de ellas. Una vez obtenidas las librerías, se cuantificaron y se mezclaron en cantidades equimoleculares. Después de la desnaturalización y dilución de esta mezcla final de librerías, se realizó finalmente la secuenciación en un equipo MiSeq de Illumina (<http://www.illumina.com/systems/miseq.ilmn>).

Los resultados de las secuencias obtenidos se sometieron a un proceso de análisis bioinformático mediante las plataformas MiSeq Control Software (MCS), MiSeq Reporter (Illumina Inc, San Diego CA, USA), GeneRead SeqVariant Analysis software (Qiagen) y ANNOVAR (Wang *et al.* Nucleic Acids Research 2010) con el objetivo de valorar la calidad de los datos y obtener finalmente un listado de variantes distintas con respecto al genoma de referencia, cuya implicación en el fenotipo del paciente se valoró individualmente. La cobertura mínima aceptable fue de 20x. Las zonas que no alcanzaron este nivel de cobertura y aquellas zonas no cubiertas por el diseño del panel se analizaron mediante secuenciación Sanger.

El “panel básico” o DT I fue validado utilizando muestras de controles y de pacientes con un diagnóstico molecular previamente establecido.

2. Panel Ampliado (DT II y disgenesia tiroidea)

Se ha diseñado un segundo panel con otros genes relacionados con el hipotiroidismo (GeneRead) para estudiar pacientes con resultados genotipo-fenotipo no concluyentes después del análisis del “panel básico” o DT I. Este segundo panel NGS (GeneRead, Qiagen, EEUU) incluyó otros genes descritos implicados en la regulación de la hormonogénesis tiroidea, algunos de ellos también relacionados con la disgenesia tiroidea y asociados a fenotipos sindrómicos: *ANO1*, *GNAS*, *TTF1/NKX2-1*, *TTF2/FOXE1*, *NKX2-5*. Su tamaño medio y cobertura fue similar al “panel básico” con una cobertura total cercana al 100%. Las regiones no incluidas en el panel y las de cobertura inferior a 20 se analizaron mediante secuenciación Sanger.

▪ ANÁLISIS DE LA COHORTE DE PACIENTES MEDIANTE LOS PANELES NGS DISEÑADOS

Después del análisis bioinformático del panel/de los paneles se obtuvo una tabla con las variantes observadas para cada paciente en la que se incluyó: la descripción de la variante, su posible efecto en la proteína, su frecuencia en las bases de datos poblacionales, la predicción de patogenicidad (CADD; SIFT, Polyphen, Mutation Assesor, etc.), la conservación evolutiva y la anotación en bases de datos de variantes patológicas (Clin Var, HGMD, Varsome). La nomenclatura utilizada para describir las variantes fue la recomendada por Human Genome Variation Society (<http://www.HGVS.org/varnomen>).

Las variantes se clasificaron siguiendo las recomendaciones del “American College of Medical Genetics and Genomics” (ACMG) y de la “Association for Molecular Pathology” (AMP) (Richards *et al.* Gen Med 2015). Todas aquellas variantes consideradas potencialmente patogénicas se confirmaron mediante secuenciación Sanger, para lo que se diseñaron *primers* específicos para los fragmentos a amplificar.

▪ ESTUDIO DE LAS VARIANTES IDENTIFICADAS MEDIANTE EL ANÁLISIS GENÉTICO DE LOS FAMILIARES AFECTOS Y NO AFECTOS

Las variantes potencialmente patogénicas detectadas en los pacientes se analizaron en sus familiares (afectos y no afectos), con el fin de conocer si la variante observada era *de novo* o, por el contrario, heredada. Es de interés conocer la procedencia familiar de cada variante, tanto para

realizar estudios de cosegregación variante-enfermedad como para poder efectuar consejo genético.

En caso de dos variantes candidatas en heterocigosis en un gen con patrón de herencia recesiva, el estudio de los progenitores permite conocer si las variantes están en *trans* y, por lo tanto, afectan a los dos alelos de la proteína (heterocigoto compuesto).

▪ **ESTUDIO *IN SILICO* DE LA POSIBLE PATOGENICIDAD DE LAS VARIANTES OBSERVADAS MEDIANTE HERRAMIENTAS INFORMÁTICAS**

El estudio *in silico* para predecir la patogenicidad de las diferentes variantes observadas se realizó mediante el análisis de diferentes características de cada variante:

- a) La frecuencia alélica de la variante en la población general, publicada en las siguientes bases de datos: GnomAD (<http://gnomad.broadinstitute.org/>), Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu>), 1.000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/>) y Exome Aggregation Consortium (ExAC, <http://exac.broadinstitute.org/>). Solo se tuvieron en cuenta aquellas variantes cuya frecuencia era inferior al 1% en la población control.
- b) El estudio comparativo de la conservación en diferentes especies a lo largo de la escala evolutiva del aminoácido afectado.
- c) La predicción de la patogenicidad *in silico* mediante el software Alamut v2.1 (Interactive Biosoftware), un programa que integra diversas herramientas de predicción de patogenicidad (MutationTester, PolyPhen, Align GVGD, SIFT). Además, este programa también permite predecir cambios en los patrones de *splicing* mediante diversas herramientas (Gene Splicer, Human Splicing Finder, MaxEntScan, NNSPLICE y Splice site Finder-like).

Una vez recogida y analizada toda la información anterior y la obtenida en la bibliografía, cada variante candidata se clasificó siguiendo las recomendaciones del “American College of Medical Genetics and Genomics” (ACMG) y de la “Association for Molecular Pathology” (AMP) (Richards *et al.* Gen Med 2015), considerando de interés diagnóstico las que se catalogaron como patogénicas o probablemente patogénicas y las de significado incierto (VUS) pero que cumplían algunos criterios

de posible patogenicidad, entre ellos estar en *trans* con una variante patogénica o probablemente patogénica.

Finalmente, para cada paciente, se evaluaron las posibles variantes candidatas y su correlación con el fenotipo clínico.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo. Para las variables categóricas, se calcularon las frecuencias y el intervalo de confianza exacto al 95%. Para las variables continuas se calculó la media y la DE, junto al intervalo de confianza para la media al 95% y la mediana y el rango intercuartílico.

Para realizar el análisis comparativo entre las diferentes categorías de las variables de interés, se realizó un test de comparación entre grupos. En el caso de que la variable fuera cuantitativa se realizó una prueba Kruskal-Wallis. Para las variables categóricas se efectuó una prueba chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher cuando las frecuencias esperadas fueron inferiores a 5.

El nivel de significación estadística se estableció en $p=0.05$.

Dado que en el análisis se efectuaron muchas comparaciones, fue necesario corregir (ajustar) los p-valores, ya que algunos resultados podían ser dados al azar. Existen varios métodos para efectuar esta corrección. En este caso, se optó por utilizar un método que corrige el p valor a partir de corregir la probabilidad de obtener falsos resultados positivos, el *false discovery rates* (FDR). Así, se ha efectuó un ajuste del p-valor por el método FDR (Benjamini & Hochbert,1995).

Para los análisis gráficos de las variables categóricas se realizó un diagrama de barras, donde cada barra indicaba un grupo y cada color una categoría de la variable clínica a tener en cuenta; el eje vertical indicaba el porcentaje. Para las variables numéricas se realizó un *boxplot* (diagrama de cajas) teniendo en cuenta cada uno de los grupos.

Todos los análisis fueron realizados con el programa estadístico "R" (R version 3.6.1; 2019-07-05), Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing, con el soporte de la Unidad de Bioestadística del Institut de Recerca del Hospital Vall d'Hebron (VHIR).

5. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los pacientes que forman parte de este estudio, o sus tutores responsables, aprobaron el uso de sus muestras en estudios de investigación mediante un consentimiento informado. Se mantuvo la confidencialidad de los mismos mediante la asignación de una codificación a la muestra.

Este proyecto fue aprobado por el CEIC del HUVH (PR AMI 390/2016, Anexo 2).

RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES

1.1. TAMAÑO MUESTRAL Y DATOS PERINATALES

Se han incluido un total de 70 pacientes en el estudio.

En este apartado se recogen los datos perinatales: sexo y origen, edad gestacional, antecedentes familiares y antropometría al nacimiento.

1.1.1. SEXO Y ORIGEN

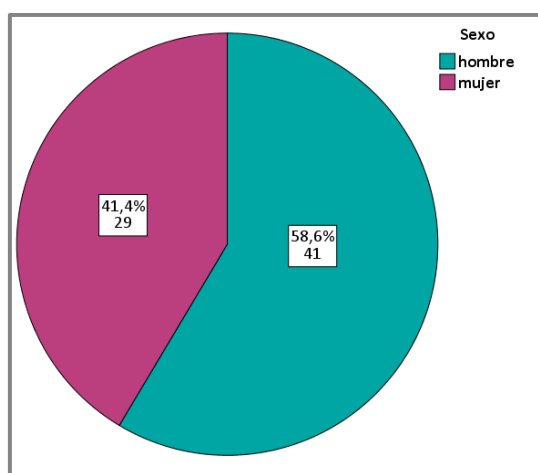


Figura 16. Distribución de la muestra por sexo.

En la **Figura 16** vemos que, del total de la muestra de pacientes analizados, 41 fueron hombres (58.6%) y 29 mujeres (41.4%).

Por lo que se refiere a la procedencia de los pacientes, un total de 62 eran de origen europeo, 5 de origen marroquí y 3 de origen asiático.

1.1.2 EDAD GESTACIONAL

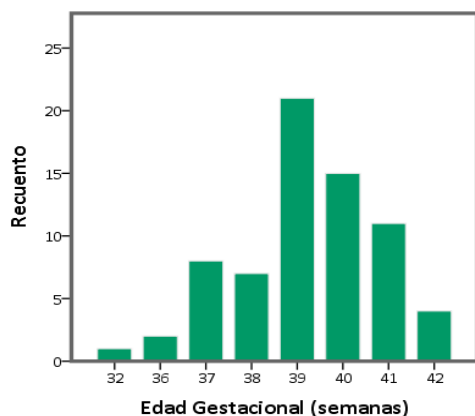


Figura 17. Distribución de la muestra por edad gestacional.

Como vemos en la **Figura 17**, en la muestra predominaron los pacientes de 39-40 semanas de gestación (30 y 21.4% respectivamente). Solo se incluyeron 3 pacientes prematuros (4.3%) y 4 postérmino (5.7%).

1.1.3. ANTROPOMETRÍA AL NACIMIENTO

	Valor	n
Peso (gramos)	3254.6±558.3 3200 (2985,3640) IC [3120.5,3388.8]	69
Longitud (cm)	49.4±2.4 50 (48,51) IC [48.9,50]	69
Perímetro cefálico (cm)	34.7±1.4 35 (34,35.5) IC [34.4,35.1]	65

Tabla 10. Peso, longitud y perímetro cefálico al nacimiento. Valores expresados como media± desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 10** se muestran los datos antropométricos al nacimiento en valores absolutos. En el total de la muestra solo había dos pacientes con un peso superior a las 2 DE, un paciente con una

longitud superior a las 2 DE, un paciente con un peso inferior a -2 DE y tres pacientes con una longitud inferior a -2 DE. Por lo que se refiere al perímetro cefálico (PC), tres presentaron un PC por encima de las 2 DE y dos por debajo de las -2 DE.

1.1.4. ANTECEDENTES FAMILIARES DE HIPOTIROIDISMO

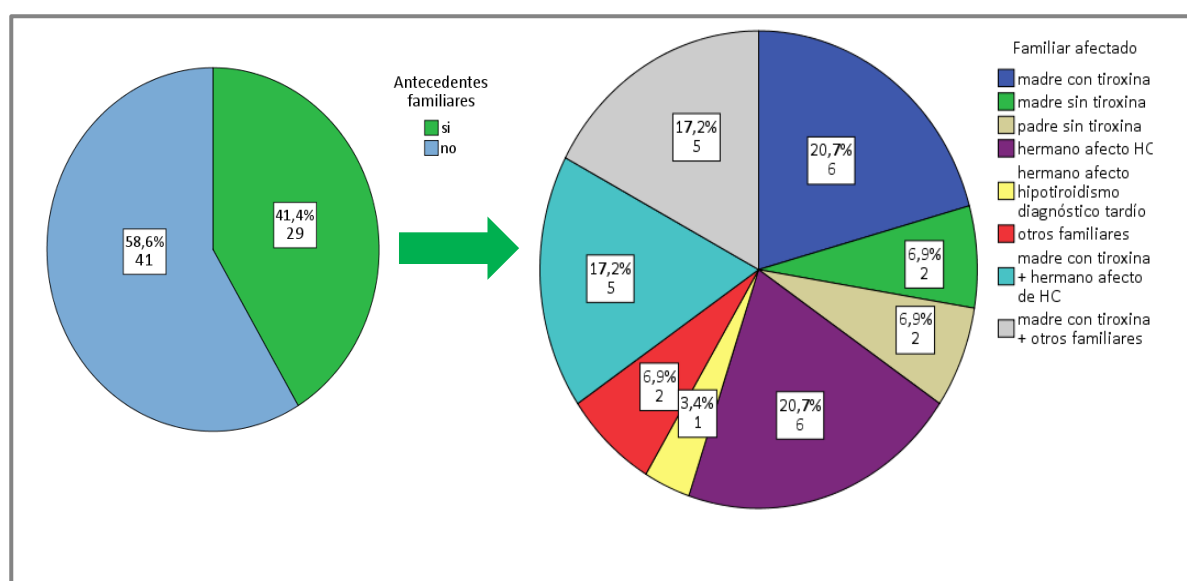


Figura 18. Presencia de antecedentes familiares de hipotiroidismo y familiar afecto.

Un total de 29 pacientes (41.4%) presentaron antecedentes familiares de hipotiroidismo. En la **Figura 18** se muestra la distribución según el familiar afecto de estos 29 pacientes.

El familiar más frecuentemente afecto fue la madre del paciente. En toda la muestra, un total de 18 pacientes (25.7%) presentaron antecedentes maternos de hipotiroidismo (16 de ellas con tratamiento sustitutivo y 2 de ellas sin tratamiento, es decir, con hipotiroidismo subclínico).

Dos pacientes presentaban antecedentes de hipotiroidismo subclínico en sus padres.

Se encontraron antecedentes de HC en un hermano en 6 pacientes (8.5%), así como un paciente con el antecedente de un hermano con hipotiroidismo de debut tardío.

En 7 de los 18 pacientes con antecedentes maternos positivos, se efectuó el estudio de hipotiroidismo autoinmune, mediante determinación de anticuerpos TgAb y TPOAb, resultando en todos ellos negativo.

1.2. DATOS CLÍNICOS EN LA PRIMERA VISITA

En este apartado se recogen los datos clínicos obtenidos en la primera visita realizada en la Unidad de Endocrinología Pediátrica del HUVH, centro de referencia para la confirmación del diagnóstico y el tratamiento del HC en Cataluña: edad a la primera visita, niveles de TSH en el cribado neonatal y valores hormonales confirmatorios, resultados de la gammagrafía ^{99m}Tc y la ecografía tiroidea, y tratamiento sustitutivo al diagnóstico.

1.2.1. EDAD A LA PRIMERA VISITA

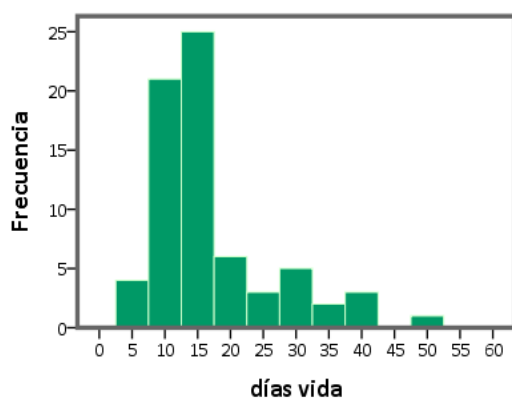


Figura 19. Edad de los pacientes el día de la primera visita.

La edad media de los pacientes el día de la primera visita fue de 17 ± 9.3 días de vida (mínimo 5 días de vida, máximo 48 días de vida). Un 68.6% de los pacientes acudieron a la primera visita antes de los 15 días de vida (**Figura 19**).

1.2.2. NIVELES DE TSH EN EL CRIBADO NEONATAL Y VALORES HORMONALES CONFIRMATORIOS

En este apartado se analizan los valores hormonales en el momento de la confirmación diagnóstica; la correlación entre los niveles de TSH de cribado y TSH confirmatoria, así como la correlación entre esta última y la FT4; la clasificación de la gravedad según la TSH y la FT4 confirmatorias y los valores de TSH (de cribado y confirmatoria) de los casos falsos positivos.

	Media \pm DE	Mediana (IQR)	Mínimo, máximo	IC	n
TSH cribado (mU/L)	93.3 \pm 80.2	61.7 (25.7,139.5)	10.1,381	74.2,112.4	70
TSH (mU/L)	206.4 \pm 212.2	95.7 (26.8,375)	5.3,835	155.7,257	70
FT4 (ng/dL)	0.9 \pm 0.5	0.9 (0.4,1.3)	0.1,1.8	0.8,1	65
Tg (ng/mL)	552 \pm 859.5	182 (53.7,550)	0.2,4588	323.9,780.2	57

Tabla 11. Valores de TSH de cribado y valores hormonales de TSH, FT4 y Tg confirmatorios. DE, desviación estándar; IQR, rango intercuartílico; IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En la **Tabla 11** se muestran los datos de los resultados hormonales obtenidos en la primera visita, así como los valores de TSH procedentes del cribado neonatal.

La media de los niveles de TSH de cribado fue de 93.3 \pm 80.2 mU/L. En la analítica realizada el día de la primera visita, estos valores fueron más elevados (206.4 \pm 212.2 mU/L). La media de los niveles de FT4 fue de 0.9 \pm 0.5 ng/dL y, la media de los niveles de Tg, de 552 \pm 859.5 ng/mL.

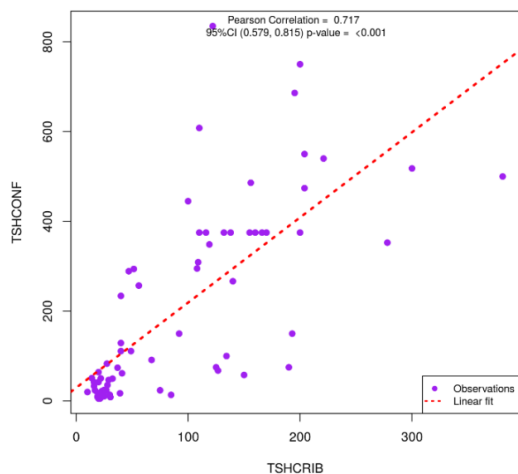


Figura 20. Correlación entre los niveles de la TSH de cribado y la TSH confirmatoria.
TSHCRIB, TSH de cribado; TSHCONF, TSH en la confirmación diagnóstica.

La **Figura 20** muestra la correlación entre los niveles de TSH obtenidos en el cribado neonatal y los que se determinaron el día de la primera visita en el hospital. Existe una correlación claramente positiva entre ambos niveles (coeficiente de correlación de Pearson de 0.71, $p < 0.001$).

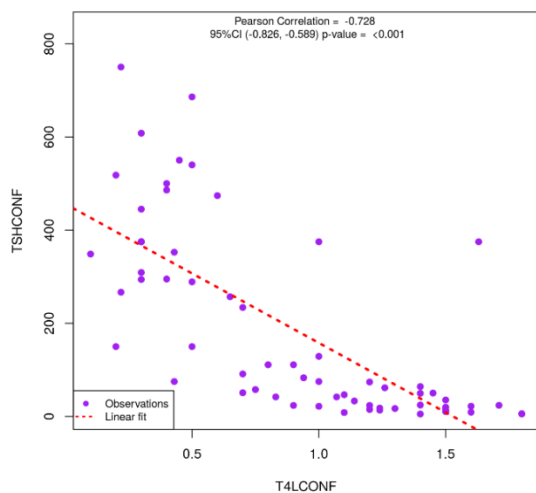


Figura 21. Correlación entre los niveles de la FT4 y la TSH confirmatoria.
FT4CONF, FT4 confirmatoria; TSHCONF, TSH en la confirmación diagnóstica.

La **Figura 21** muestra la correlación entre los niveles de TSH y FT4 en el momento de la confirmación diagnóstica. Como era de esperar, se encuentra una correlación negativa entre dichos niveles (coeficiente de correlación de Pearson -0.72, $p < 0.001$). Esto significa que, cuanto más elevados

sean los niveles de TSH, más bajos serán los de FT4 y, por lo tanto, más severo el grado de disfunción tiroidea.

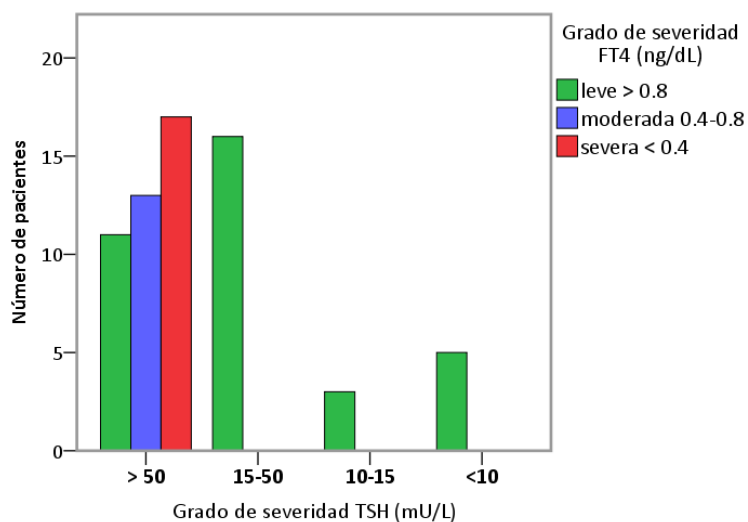


Figura 22. Grado de severidad del hipotiroidismo según los niveles de TSH y FT4.

En la **Figura 22** se representa el grado de severidad clasificado según los niveles de FT4 y según los niveles de TSH. Podemos observar que un total de 41 pacientes presentaron niveles de TSH por encima de 50 mU/L. De estos, 17 (41.5%) presentaron niveles de FT4 por debajo de 0.4 ng/dL, 13 (31.7%) entre 0.4 y 0.8 ng/dL y 11 (26.8%) superiores a 0.8 ng/dL. Todos los pacientes con niveles de TSH por debajo de 50 mU/L, presentaron niveles de FT4 superiores a 0.8 ng/dL.

En la muestra se incluyeron 5 pacientes con alteración de la TSH de cribado y niveles de TSH confirmatoria inferiores a 10 mU/L (falsos positivos), que se muestran en la **Tabla 12**. La descripción y evolución de estos casos se detallará más adelante (apartado 6, página 149).

Paciente	TSH cribado (mU/L)	TSH confirmación (mU/L)
5	20	6
12	30.6	8.5
21	21.4	5.4
22	19	9.2
65	20	5.3

Tabla 12. Niveles de TSH en el cribado y en la confirmación diagnóstica en los pacientes falsos positivos.

1.2.3. GAMMAGRAFÍA ^{99m}Tc Y ECOGRAFÍA TIROIDEAS

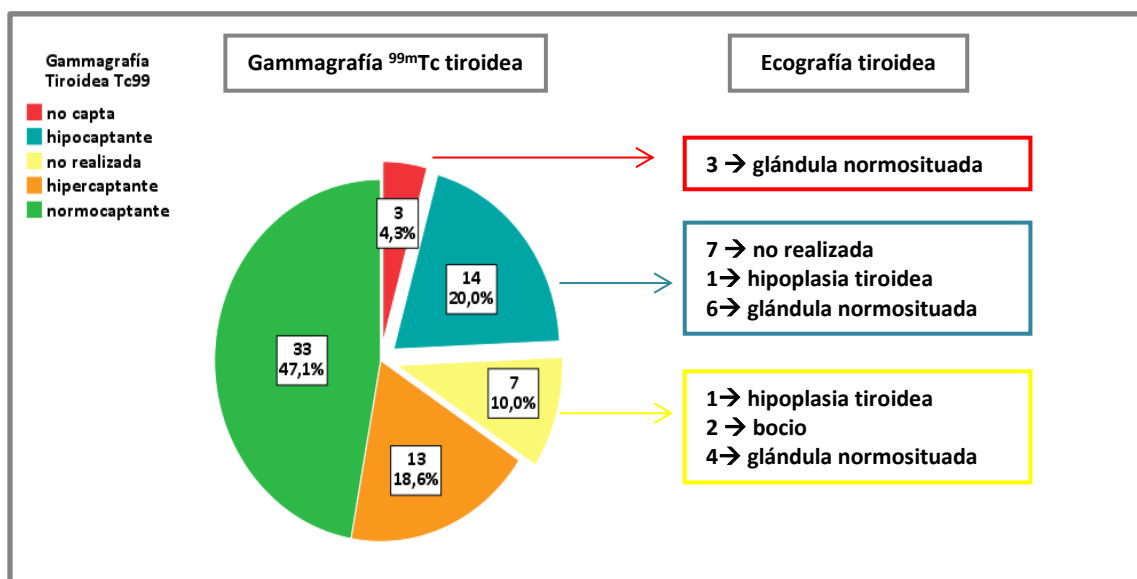


Figura 23. Gammagrafía y ecografía tiroideas en la confirmación diagnóstica.

En la **Figura 23** se muestran los resultados de las pruebas de imagen realizadas en el momento del diagnóstico.

En el 90% de los pacientes se realizó la gammagrafía tiroidea el día de la primera visita. No se realizó esta prueba en un 10% de los pacientes, la mayoría de ellos porque cuando acudieron a la primera visita ya habían iniciado el tratamiento sustitutivo.

En 33 pacientes (47.1%) la gammagrafía mostró una glándula normosituada con un grado de captación normal. En 13 pacientes (18.6%) se encontró una glándula normosituada con aumento de captación. La gammagrafía evidenció ausencia total de captación en 3 pacientes (4.3%), con presencia de glándula normosituada por ecografía en todos ellos. De los 14 pacientes (20%) con diagnóstico de glándula hipocaptante, se realizó ecografía en la mitad de ellos: en 1 se confirmó una hipoplasia tiroidea y en los otros 6 se halló una glándula eutópica de tamaño normal.

Se realizó ecografía tiroidea a todos los pacientes a los que no se efectuó la gammagrafía: 4 de ellos tenían una glándula eutópica, 2 bocio y 1 hipoplasia tiroidea.

1.2.3.1. RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES HORMONALES CONFIRMATORIOS Y EL RESULTADO DE LA GAMMAGRAFÍA TIROIDEA

En este apartado se analiza si el resultado de la gammagrafía tiroidea al diagnóstico tiene alguna relación con los niveles hormonales confirmatorios.

	Normocaptante (n=33)	Hipercaptante (n=13)	Hipocaptante (n=14)	p valor ajustado	n total
TSH (mU/L)	n=33 260.6±217.1 294 (50.3,375) IC [183.6,337.6]	n=13 211.6±189.1 150 (50.9,309) IC [97.3,325.9]	n=14 38.5±45.9 18.9 (11.2,39.8) IC [12,65]	<0.01	60
FT4 (ng/dL)	n=32 0.8±0.5 0.7 (0.3,1.2) IC [0.6,1]	n=13 0.7±0.4 0.6 (0.4,0.9) IC [0.5,1]	n=14 1.2±0.4 1.3 (1.1,1.5) IC [1,1.5]	0.02	59
Tg (ng/mL)	n=27 567.6±754.5 300 (48.9,882.5) IC [269.1,866]	n=12 1071.1±1333.2 808 (58.5,1182.5) IC [224,1918.2]	n=12 103.1±64.6 83.4 (57.4,157.5) IC [62.1,144.2]	0.1	51

Tabla 13. Valores hormonales según el resultado de la gammagrafía. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 13** se muestran los valores hormonales confirmatorios de TSH, FT4 y Tg en los pacientes clasificados según el resultado de la gammagrafía.

Entre los pacientes a los que se les realizó la gammagrafía, el grupo con niveles más elevados de TSH resultó ser el de glándula normocaptante, con una media de 260.6±217.1 mU/L. Por el contrario, el grupo con niveles más bajos de TSH fue el de glándula hipocaptante, con una media de 38.5±45.9 mU/L. El grupo con glándula hipercaptante obtuvo una media de TSH de 211.6±189.1 (**Figura 24**). Estas diferencias entre los grupos resultan estadísticamente significativas ($p < 0.01$).

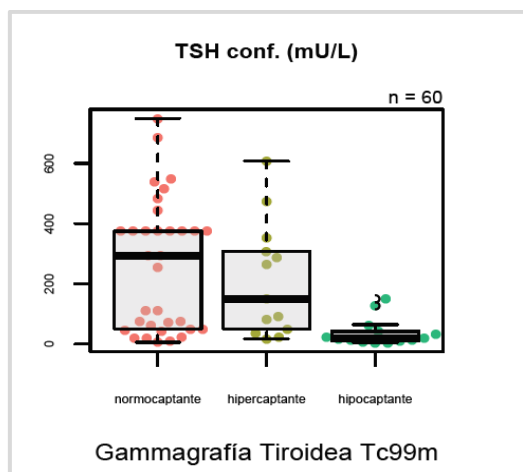


Figura 24. Valores de TSH confirmatoria según los resultados de la gammagrafía tiroidea.

En referencia a los valores medios de FT4 entre los distintos grupos, también se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.02$), siendo los valores medios más elevados los que presentó el grupo con glándula hipocaptante (1.2 ± 0.4 ng/dL) y los más bajos los que presentó el grupo con glándula hipercaptante (0.7 ± 0.4 ng/dL). Los pacientes con glándula normocaptante obtuvieron unos niveles de FT4 de 0.8 ± 0.5 ng/dL (**Figura 25**).

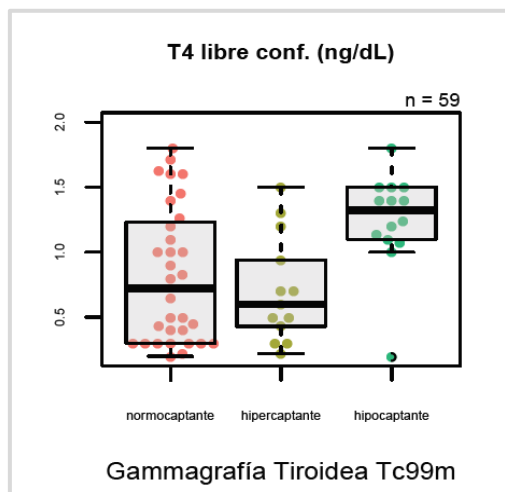


Figura 25. Valores de FT4 confirmatoria según los resultados de la gammagrafía tiroidea.

Respecto a los niveles medios de Tg, los más elevados se encontraron en los pacientes con glándula hipercaptante (1071.1 ± 1333.2 ng/mL) y los más bajos en el grupo con glándula hipocaptante

(103.1±64.6 ng/mL). El grupo con glándula normocaptante obtuvo unos niveles de 567.6±754.5 ng/mL. Estas diferencias de los valores de Tg entre los distintos grupos no son estadísticamente significativas (**Figura 26**).

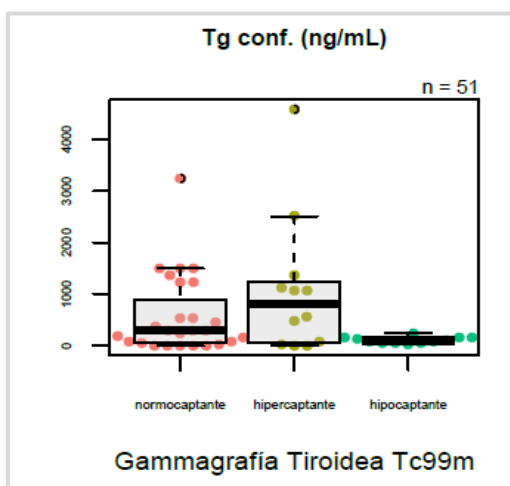


Figura 26. Valores de Tg confirmatoria según los resultados de la gammagrafía tiroidea.

Los 3 pacientes con ausencia total de captación presentaron los siguientes niveles hormonales: TSH media de 105.1±114.8 mU/L, FT4 de 0.9±0.3 ng/dL y Tg de 70.8±70.9 ng/mL.

A continuación, se analiza la relación entre el grado de severidad del hipotiroidismo y los resultados de la gammagrafía tiroidea. Se ha clasificado a los pacientes según la severidad del hipotiroidismo valorando los niveles de TSH, FT4 y los niveles de ambas conjuntamente.

	Normocaptante	Hipercaptante	Hipocaptante	p valor ajustado	n
TSH > 50 mU/L	25 (75.8) IC [57.7,88.9]	10 (76.9) IC [46.2,95]	3 (21.4) IC [4.7,50.8]	0.01	60
TSH 15-50 mU/L	6 (18.2) IC [7, 35.5]	3 (23.1) IC [5,53.8]	6 (42.9) IC [17.7,71.1]		
TSH 10-14.9 mU/L	0 (0) IC [0,10.6]	0 (0) IC [0,24.7]	2 (14.3) IC [1.8,42.8]		
TSH < 10 mU/L	2 (6) IC [0.7,20.2]	0 (0) IC [0,24.7]	3 (21.4) IC [4.7,50.8]		

Tabla 14. Clasificación de la severidad por niveles de TSH según el resultado de la gammagrafía. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 14**, donde se muestra el grado de severidad del hipotiroidismo según la TSH confirmatoria dependiendo del resultado de la gammagrafía, podemos ver que la proporción de pacientes con TSH > 50 mU/L en los grupos con glándula normocaptante e hipercaptante es alta, del 75.8% y el 76.9%, respectivamente. Un 18.2% de los pacientes del grupo normocaptante presentó niveles de TSH de entre 15 y 50 mU/L y un 6% inferiores a 10 mU/L. En el grupo hipercaptante, un 23.1% de los pacientes presentó unos niveles de 15-50 mU/L y ninguno de ellos por debajo de 15 mU/L. Por el contrario, en el grupo hipocaptante, solo un 21.4% de los pacientes presentó niveles de más de 50 mU/L, y el resto, por debajo de este dintel (la mayoría, un 42.9%, de entre 15 y 50 mU/L). Las diferencias del grado de severidad entre los distintos grupos son estadísticamente significativas ($p=0.01$). Podemos decir, entonces, que el nivel de gravedad es mayor en los pacientes con glándula normo e hipercaptante (discretamente mayor en este grupo) y que, ante una glándula hipocaptante, el grado de severidad es variable, pero con alta probabilidad de encontrar unos niveles de TSH inferiores a 50 mU/L.

	Normocaptante	Hipercaptante	Hipocaptante	p valor ajustado	n
Leve FT4 > 0.8 ng/dL	16 (50) IC [31.9,68.1]	4 (30.8) IC [9.1,61.4]	13 (92.9) IC [66.1,99.8]	0.01	59
Moderada FT4 0.4-0.8 ng/dL	5 (15.6) IC [5.3,32.8]	6 (46.2) IC [19.2,74.9]	0 (0) IC [0,23.2]		
Severa FT4 <0.4 ng/dL	11 (34.4) IC [18.6,53.2]	3 (23) IC [5,53.8]	1 (7.1) IC [0.2,33.9]		

Tabla 15. Clasificación de la severidad por niveles de FT4 según el resultado de la gammagrafía. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 15**, donde se clasifica el grado de severidad según los valores de FT4, podemos objetivar que los pacientes con glándula normocaptante son los que incluyeron un porcentaje más alto de pacientes con hipotiroidismo severo (34.4% versus 23% y 7.1% en los grupos hipercaptante e hipocaptante) aunque la mitad de los pacientes de este grupo presentaron un hipotiroidismo leve. La severidad en el grupo hipercaptante fue variable, encontrando un hipotiroidismo moderado en el 46.2% de los pacientes. El grado de severidad en los pacientes con glándula hipocaptante fue claramente leve (92.9%) y solo en 1 de ellos es severo. Las diferencias entre estos grupos también son estadísticamente significativas ($p=0.01$).

	Normocaptante	Hipercaptante	Hipocaptante	p valor ajustado	n
TSH >50 mU/L y FT4 < 0.8 ng/dL	16 (50) IC [31.9,68.1]	9 (69.2) IC [38.6,90.9]	1 (7.1) IC [0.2,33.9]	0.01	59
TSH > 50 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	8 (25) IC [11.5,43.4]	1 (7.7) IC [0.2,36]	2 (14.3) IC [1.8,42.8]		
TSH 15-49 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	6 (18.8) IC [7.2,36.4]	3 (23.1) IC [5,53.8]	6 (42.9) IC [17.7,71.1]		
TSH 10-14.9 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	0 (0) IC [0,10.9]	0 (0) IC [0,24.7]	2 (14.3) IC [1.8,42.8]		
TSH <10 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	2 (6.2) IC [0.8,20.8]	0 (0) IC [0,24.7]	3 (21.4) IC [4.7,50.8]		

Tabla 16. Clasificación de la severidad por niveles de TSH y FT4 combinados según el resultado de la gammagrafía. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

En la tabla superior (**Tabla 16**) se muestra el grado de severidad combinado (TSH + FT4) según los resultados de la gammagrafía. Vemos que la proporción de pacientes con hipotiroidismo severo más alta se encontró en el grupo hipercaptante (69.2%) seguido del normocaptante (50%). Por el contrario, solo un 7.1% de los pacientes del grupo hipocaptante presentó un nivel severo de hipotiroidismo. En este último grupo, un 35.7% de los pacientes presentó niveles de TSH inferiores a 15 mU/L con FT4 mayor a 0.8 mg/dL. En cambio, solo 2 pacientes en el grupo normocaptante y, ninguno en el hipercaptante, presentaron este grado de severidad tan leve. Las diferencias entre grupos son también estadísticamente significativas ($p=0.01$).

En resumen, podemos concluir que los pacientes con un grado más severo de hipotiroidismo son los que presentan glándulas hipercaptantes y normocaptantes y que los pacientes con glándula hipocaptante presentarán, probablemente, un hipotiroidismo leve.

1.2.4. TRATAMIENTO SUSTITUTIVO AL DIAGNÓSTICO

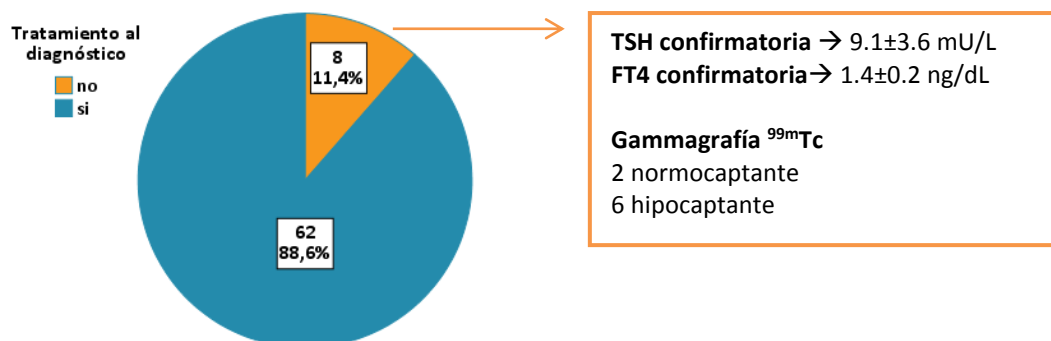


Figura 27. Tratamiento sustitutivo al diagnóstico.

Como vemos en la **Figura 27**, un 88.2% de los pacientes precisaron tratamiento sustitutivo desde el momento del diagnóstico.

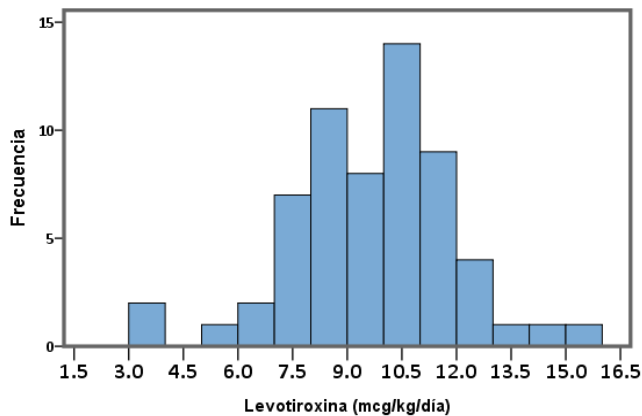


Figura 28. Dosis de LT4 al diagnóstico.

La dosificación inicial media de LT4 fue de 9.1 ± 2.2 mcg/kg/día (**Figura 28**).

En la **Tabla 17** se describen los 8 pacientes que no recibieron tratamiento sustitutivo en el momento del diagnóstico.

Paciente	TSH conf. (mU/L)	FT4 conf. (ng/dL)	Edad inicio LT4	TSH inicio LT4 (mU/L)	FT4 inicio LT4 (ng/dL)	Edad actual (años)	LT4 actual (mcg/kg/día)
5	6	1.8	2 meses	13.8	1.1	4	no
9	10.4	1.5	2 meses	7.4	1.1	5	no
12	8.5	1.1	PS	PS	PS	PS	PS
21	5.4	1.8	PS	PS	PS	PS	PS
22	9.2	1.6	1 mes	9.2	1.6	4	1.4
36	13.5	1.5	PS	PS	PS	PS	PS
47	15	1.2	3 meses	9	1.3	5	no
65	5.3	1.4	22 meses	1.8	1.3	6	2.6

Tabla 17. Pacientes sin tratamiento sustitutivo al diagnóstico. PS, pérdida de seguimiento.

Los niveles medios de TSH confirmatoria de los 8 pacientes (11.4%) que no recibieron tratamiento sustitutivo desde el día de la primera visita fueron de 9.1 ± 3.6 mU/L y los de FT4 de 1.4 ± 0.2 ng/dL. De estos pacientes, 5 precisaron iniciar el tratamiento antes de la edad de reevaluación: 4 antes del año de edad y uno entre los 12 y 24 meses de vida. Los 3 pacientes restantes perdieron el seguimiento clínico.

El patrón gammagráfico de los pacientes sin tratamiento al diagnóstico fue una glándula hipocaptante en 6 de ellos y normocaptante en dos.

1.3. REEVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

En este bloque se detallan las características clínicas de los pacientes en el momento de la reevaluación diagnóstica. Se detalla el número de pacientes reevaluados, la edad en la reevaluación, los resultados de los niveles hormonales y pruebas de imagen realizadas y su diagnóstico definitivo (hipotiroidismo de carácter permanente o transitorio). Más adelante, se analizarán estos datos correlacionándolos con su genotipo (apartado 3.1.6, página 114).

1.3.1. PACIENTES REEVALUADOS Y EDAD EN LA REEVALUACIÓN

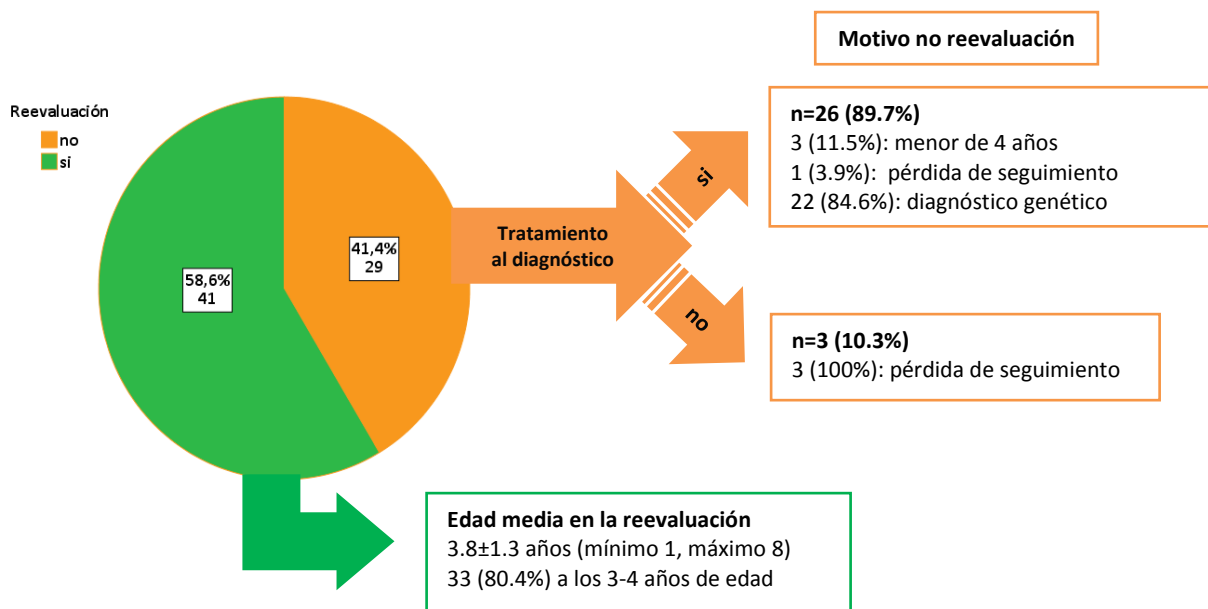


Figura 29. Pacientes reevaluados, no reevaluados y motivo de no reevaluación.

Como podemos ver en la **Figura 29**, un total de 41 pacientes (58.6%) fueron reevaluados en algún momento de su evolución. La edad media en la reevaluación fue de 3.8±1.3 años. El 80.4% de los pacientes se reevaluó entre los 3 y los 4 años de edad. Solo 1 paciente se reevaluó antes de los 3 años de edad.

El resto, 29 pacientes (41.4%), no fueron candidatos a la reevaluación diagnóstica por distintos motivos.

Los 3 pacientes que no iniciaron tratamiento sustitutivo al diagnóstico se han considerado no reevaluados porque perdieron el seguimiento clínico antes de los 3 años de edad.

La mayor parte de los pacientes no reevaluados (84.6%) no fueron sometidos a dicha reevaluación porque obtuvimos los resultados del estudio genético antes de los 4 años de edad. En un caso no fue posible la reevaluación por pérdida de seguimiento y 3 de ellos no han llegado todavía a los 4 años de edad.

1.3.2. NIVELES HORMONALES Y DIAGNÓSTICO DEFINITIVO EN LA REEVALUACIÓN

En este apartado se detallan los valores hormonales en la reevaluación diagnóstica, tras un mes sin tratamiento sustitutivo, de todo el conjunto de pacientes y se realiza una clasificación por grupos según el diagnóstico obtenido.

	Media±DE	Mediana (IQR)	Mínimo, máximo	IC	n
TSH (mU/L)	63.5±86.8	15.4 (6.2,122)	1.6,323	36.1,90.9	41
FT4 (ng/dL)	0.9±0.4	1 (0.6,1.2)	0.1,1.4	0.8,1	41
Tg (ng/mL)	164.6±311.4	44 (21.9,86)	0.2,1500	57.6,271.6	35

Tabla 18. Valores hormonales en la reevaluación. IQR, rango intercuartílico; IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En la **Tabla 18** vemos que los valores medios de TSH en los pacientes reevaluados fueron de 63.5±86.8 mU/L, los de FT4 de 0.9±0.4 ng/dL, y los de Tg de 164±311.4 ng/mL.

Tras la reevaluación, los pacientes se clasificaron en 4 grupos según los resultados de los niveles hormonales:

- Hipotiroidismo permanente severo: si TSH>10 mU/L y FT4 <0.8 ng/dL
- Hipotiroidismo permanente leve: si TSH>10 mU/L y FT4 >0.8 ng/dL
- Hipotiroidismo transitorio: si TSH<5 mU/L y FT4 >0.8 ng/dL
- Hipertirotropinemia: si TSH 5-10 mU/L y FT4 >0.8 ng/dL

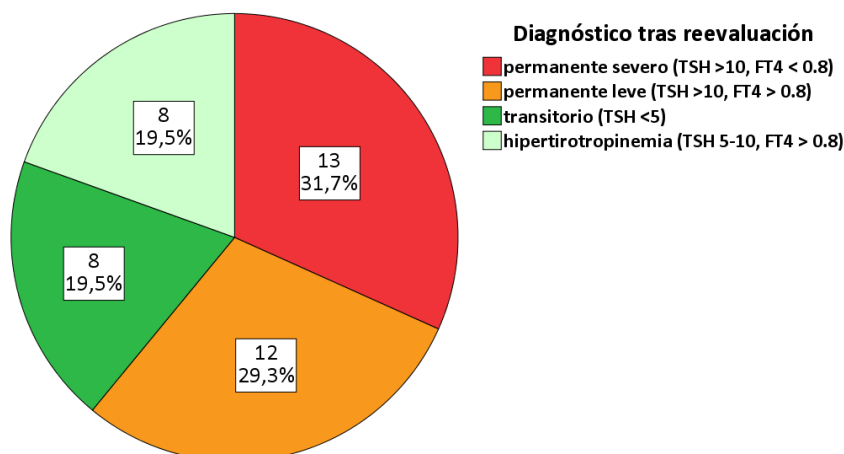


Figura 30. Diagnóstico definitivo tras la reevaluación. Niveles de TSH expresados en mU/L, niveles de FT4 expresados en ng/dL.

En la **Figura 30** se muestra el diagnóstico definitivo de los pacientes reevaluados: un total de 25 pacientes (61%) fueron diagnosticados de hipotiroidismo permanente, 13 (31.7%) de hipotiroidismo severo y 12 (29.3%) de hipotiroidismo leve. Un total de 8 pacientes (19.5%) se clasificaron como hipertirotrópinemia y los 8 restantes (19.5%) como hipotiroidismo transitorio.

	Permanente severo (n=13)	Permanente leve (n=12)	Hipertirotrópinemia (n=8)	Transitorio (n=8)	p valor	n
TSH (mU/L)	13 173.9±73.6 163.3 (122, 222) IC [129.4,218.3]	12 22±14.6 16.6 (13.6, 22) IC [12.7,31.2]	8 6.6 ±0.9 6.5 (6.1, 6.9) IC [5.9, 7.4]	8 3.1±1.1 3.2 (2.4, 4.2) IC [2.2,4.1]	<0.001	41
FT4 (ng/dL)	13 0.4±0.2 0.3 (0.2, 0.5) IC [0.3,0.5]	12 1±0.1 1 (0.9, 1.1) IC [0.9,1.1]	8 1.2±0.2 1.1 (1, 1.2) IC [1,1.3]	8 1.2±0.1 1.2 (1.1, 1.2) IC [1.1, 1.3]	<0.001	41
Tg (ng/mL)	12 339.1±475 68.9 (1.3, 673.8) IC [37.3,641]	11 110.2±150.1 46.8 (42.5, 110.5) IC [9.3,211.1]	5 55.2±22.4 40.8 (38.4, 76.6) IC [27.4,83]	7 28.9±14.6 22.2 (20.14, 36.7) IC [15.4,42.4]	0.40	35

Tabla 19. Valores hormonales según el diagnóstico definitivo en la reevaluación. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 19** se muestran los valores hormonales en la reevaluación según el diagnóstico definitivo. Como es de esperar, los niveles de TSH y FT4 muestran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos. Aunque se observa una tendencia a valores más altos de Tg

según aumenta el nivel de gravedad del diagnóstico, las diferencias de sus valores entre los distintos grupos no son estadísticamente significativas.

1.3.3. GAMMAGRAFÍA CON ^{123}I Y TEST DE DESCARGA CON PERCLORATO

En este apartado se analizan los resultados del test de descarga con perclorato y la correlación entre la gammagrafía $^{99\text{m}}\text{Tc}$ realizada en el momento del diagnóstico y la gammagrafía ^{123}I realizada en el momento de la reevaluación.

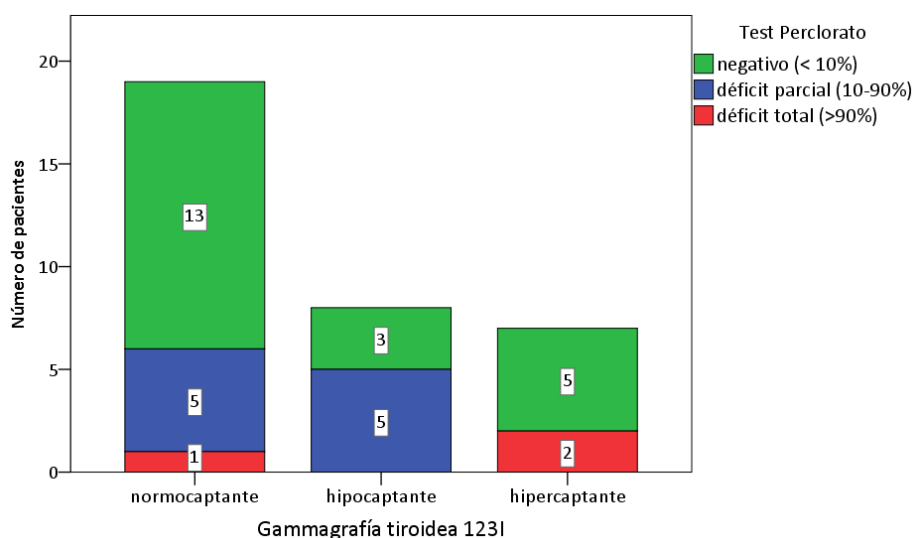


Figura 31. Resultados de la gammagrafía ^{123}I y test de descarga con perclorato en la reevaluación.

En la **Figura 31** vemos los resultados del test de descarga con perclorato y la gammagrafía con ^{123}I en la reevaluación. Se efectuó gammagrafía ^{123}I y test de descarga con perclorato en 34 (83%) de los 41 pacientes reevaluados. La mayoría de los pacientes (55.9%) mostraron una glándula normocaptante. En el resto, se identificaron glándulas con hipocaptación (23.5%) e hipercaptación (20.6%).

Por lo que respecta al test de descarga con perclorato, resultó negativo en 21 pacientes. Se identificaron defectos en la organificación del yodo en 13 pacientes: 10 compatibles con déficit de organificación parcial y 3 con déficit de organificación total.

En la **Figura 31** podemos evidenciar que 2 de los 3 tests de perclorato compatibles con déficits totales de la organificación, se acompañan de glándulas hipercaptantes. Los déficits parciales, en cambio, se acompañan de glándula normocaptante (5 casos) o hipocaptante (5 casos).

	no capta	normocaptante	hipercaptante	hipocaptante
no capta	0	0	0	0
normocaptante	2	12	1	3
hipercaptante	0	6	1	0
hipocaptante	1	4	0	3

Kendall= 0.569
 p = 0.078

Tabla 20. Concordancia entre la gammagrafía ^{99m}Tc (columnas) y la gammagrafía ^{123}I (filas). Los valores en la diagonal muestran los empates, el resto, las discrepancias.

La **Tabla 20** muestra la concordancia entre la gammagrafía ^{99m}Tc realizada en el diagnóstico y la gammagrafía ^{123}I realizada en la reevaluación. El coeficiente de Kendall fue de 0.569, pero sin ser estadísticamente significativo ($P=0.078$).

1.3.4. REINICIO DEL TRATAMIENTO TRAS LA REEVALUACIÓN

En la **Figura 32** vemos la proporción de pacientes que reiniciaron el tratamiento sustitutivo según el diagnóstico en la reevaluación.

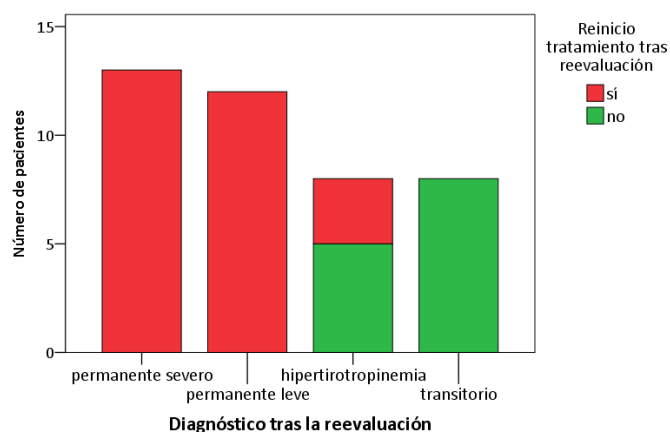


Figura 32. Reinicio del tratamiento según el diagnóstico definitivo en la reevaluación.

Del total de pacientes reevaluados, 28 (68.2%) reiniciaron el tratamiento sustitutivo tras la reevaluación. Todos los pacientes con diagnóstico definitivo de hipotiroidismo permanente (leve o severo) reiniciaron el tratamiento. De los 8 pacientes con diagnóstico de hipertirotrópinemia 3 (37.5%) reiniciaron tratamiento y 5 (62.5%) se mantuvieron sin él. Ningún paciente con diagnóstico de hipotiroidismo transitorio reinició el tratamiento sustitutivo.

2. DIAGNÓSTICO GENÉTICO

Del total de los 70 pacientes estudiados, en 54 se han encontrado variantes genéticas que podrían tener relación con su fenotipo de HC. En los apartados siguientes se detallará el genotipo de los pacientes portadores de variantes, los genes afectados, la descripción de las variantes encontradas, y los resultados del estudio de cosegregación familiar.

2.1. PACIENTES PORTADORES DE VARIANTES GENÉTICAS

En nuestra muestra, la mayoría de los pacientes, un total de 54 (77.1%), son portadores de alguna variante genética candidata a explicar el fenotipo de DT presente en los pacientes estudiados. En el resto (22.9%), no se han encontrado variantes genéticas.

Cabe recordar que, en el estudio, solo se han tenido en cuenta aquellas variantes con una frecuencia inferior al 1% en la población control. Se han considerando de interés diagnóstico las que se catalogaron como patogénicas o probablemente patogénicas y las VUS que cumplieran algunos criterios de posible patogenicidad, entre ellos, estar en *trans* con una variante patogénica o probablemente patogénica o bien tener una posible implicación en el fenotipo clínico del paciente.

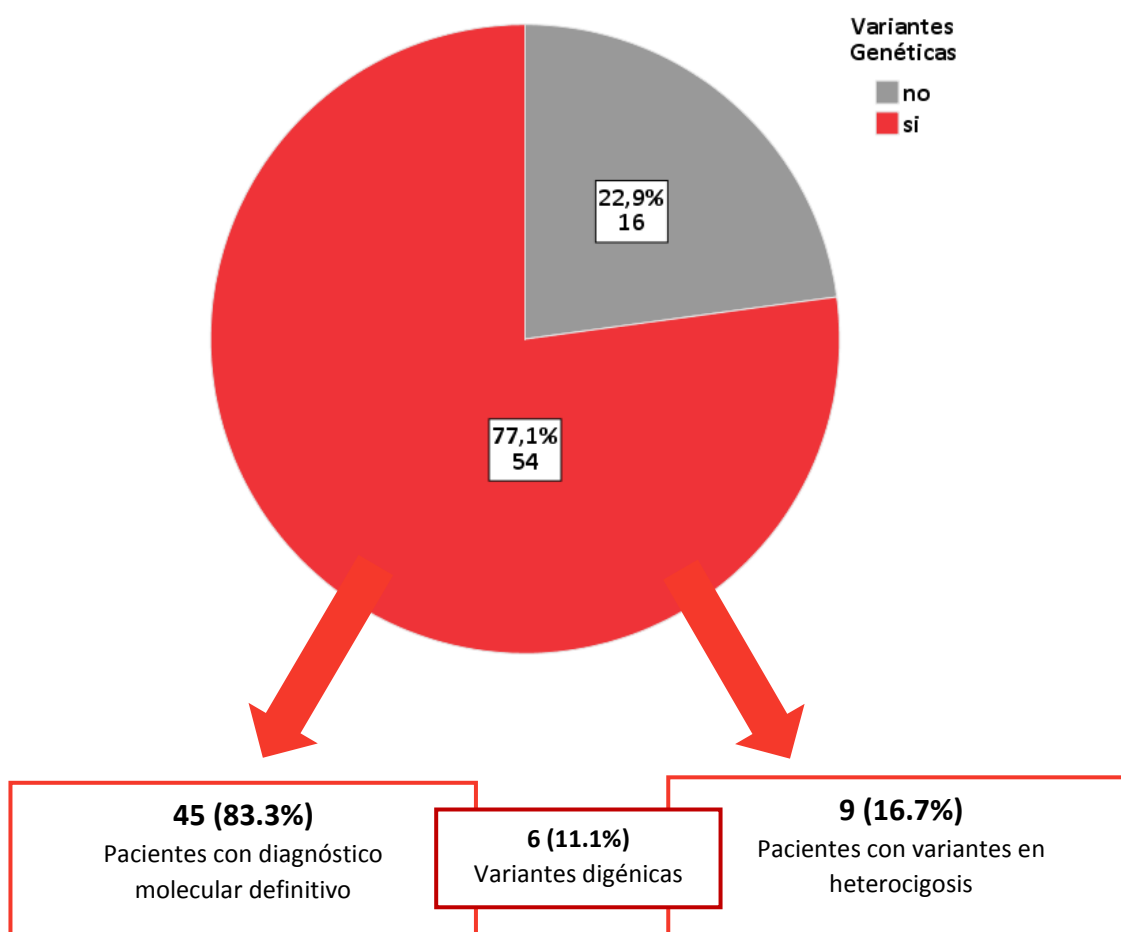


Figura 33. Pacientes portadores de variantes genéticas.

Como podemos ver en la **Figura 33**, del total de los pacientes con variantes genéticas, un 83.3% (n= 45) presentó un diagnóstico molecular definitivo (variantes en homocigosis, heterocigosis compuesta o heterocigosis en genes con herencia autosómica dominante). En el 16.7 % (n=9) restante se encontraron variantes en heterocigosis en genes con herencia autosómica recesiva, es decir, con un diagnóstico molecular no concluyente. En un total de 6 pacientes (11.1%) se encontraron variantes en dos genes distintos.

En la **Figura 34** se muestra el genotipo de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo (n=45). La mayoría de estos, eran portadores de variantes en heterocigosis compuesta (31, 68.8%). 9 pacientes eran portadores de variantes en homocigosis (20%) y 5 en heterocigosis simple en genes con herencia dominante (11.2%)

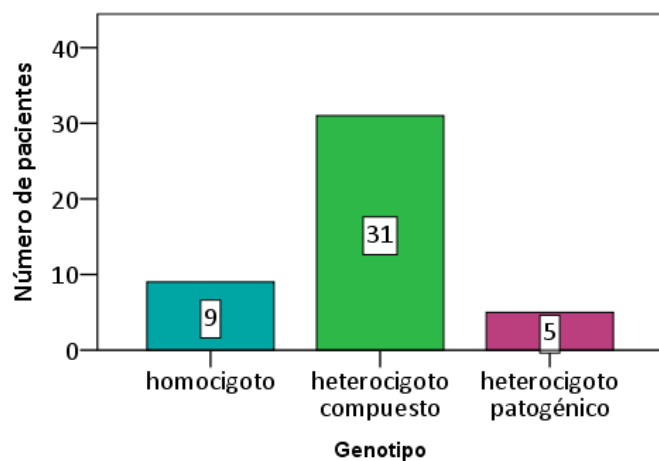


Figura 34. Genotipo de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo.

2.2. GENES AFECTADOS

En la **Figura 35** se muestran los genes afectados en los 45 pacientes con diagnóstico molecular definitivo.

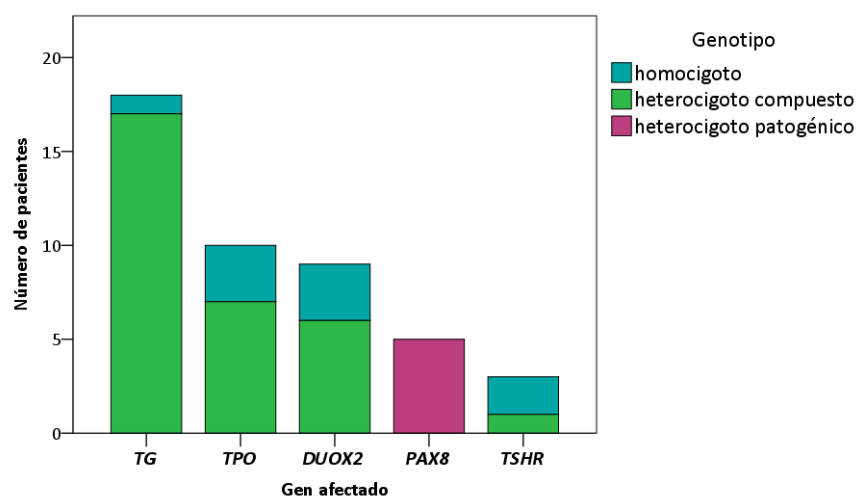


Figura 35. Genes afectados en pacientes con diagnóstico molecular definitivo.

Observamos que el gen más frecuentemente afectado fue *TG*, con variantes en un total de 18 pacientes (40%). En segundo lugar, el gen *TPO*, afectado en un total de 10 pacientes (22.2%). El tercer gen con más presencia de variantes genéticas fue *DUOX2*, afectado en un total de 9 pacientes (20%). 5 pacientes presentaron variantes genéticas en *PAX8* (11.2%) y 3 en *TSHR* (6.6%).

Asimismo, se representa la distribución de dichas variantes según su genotipo. Vemos que, en el gen *TG*, la mayoría (un total de 17) de variantes se encontraron en heterocigosis compuesta y solo 1 en homocigosis. La misma distribución se observa en los genes *TPO* y *DUOX2*, con un total de 7 y 6 variantes en heterocigosis compuesta, respectivamente, y 3 en homocigosis en cada uno de ellos. En *PAX8*, todas las variantes se encontraron en heterocigosis simple y en *TSHR*, 2 en homocigosis y 1 en heterocigosis compuesta.

Por lo que se refiere a los 9 pacientes con diagnóstico molecular no concluyente (variantes en heterocigosis simple en genes con herencia recesiva) el gen más frecuentemente afectado fue también el de la *TG*, ya que se detectaron variantes en heterocigosis en un total de 5 pacientes. En 2 de ellos se encontraron, además de las variantes en *TG*, afectación de otro gen (*TPO* y *DUOX2*). En los 4 pacientes restantes, portadores de variantes en heterocigosis, los genes afectados fueron *DUOX2* (n=2), *TSHR* (n=1) y *DUOXA2* (n=1). En los apartados 3.1 y 5.2 (páginas 105 y 137) se analizará la posible contribución de estas variantes en el fenotipo clínico de estos pacientes.

En la **Tabla 21** se describen los genes afectados en los 6 pacientes con variantes en dos genes distintos (posible carácter oligogénico de las DT). Se ha considerado gen principal aquel que presenta un genotipo homocigoto, heterocigoto compuesto o heterocigoto dominante y como secundario aquel con variantes en heterocigosis simple. En 2 pacientes con variantes en más de un gen se han encontrado las 2 variantes en heterocigosis.

PACIENTES CON VARIANTES EN 2 GENES DISTINTOS			
	Gen principal	Gen secundario	Las 2 variantes en heterocigosis
P19	<i>TG</i>	<i>IYD</i>	
P20	<i>TG</i>	<i>DUOX2</i>	
P28			<i>TG + DUOX2</i>
P42	<i>TPO</i>	<i>PAX8</i>	
P47			<i>TPO + TG</i>
P54	<i>DUOX2</i>	<i>TG</i>	

Tabla 21. Pacientes con variantes en 2 genes.

En los apartados 5.2 y 5.3 (páginas 137 y 139) se analizará si la presencia de variantes añadidas en otro gen a las que justifican el fenotipo puede contribuir a empeorar el grado de severidad de estos pacientes.

2.3. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIANTES GENÉTICAS

En la **Tabla 22** se detallan todas las variantes genéticas presentes en nuestros pacientes y que tienen una frecuencia inferior al 1% en las bases de datos que contienen información de población control, separadas por genes. Se detalla el exón donde se localizan, la alteración del nucleótido, la alteración del aminoácido y el tipo de mutación. Asimismo, se describe el estado actual (última revisión abril 2020) en el que se encuentra la variante, es decir, si está o no descrita en la literatura y el grado de patogenicidad según la clasificación de la ACMG.

GEN	Exón	Alteración nucleótido	Alteración Aminoácido	Tipo mutación	Estado (HGMD)*	Patogenicidad (ACMG)*	n
TG n=28	Exón 4	c.416G>A	p.(Trp139Ter)	nonsense	nueva	P	1
	Exón 5	c.493G>T	p.(Glu165Ter)	nonsense	nueva	P	1
	Exón 7	c.886C>T	p.(Arg296Ter)	nonsense	conocida	P	11
	Exón 9	c.1143delC	p.(Tyr382ThrfsTer20)	frameshift	conocida	P	1
		c.1333C>T	p.(Arg445Ter)	nonsense	nueva	P	1
		c.1351C>T	p.(Arg451Ter)	nonsense	conocida	P	2
	Exón 17	c.3749G>T	p.(Arg1250Leu)	missense	conocida	VUS	1
		c.3790T>G	p.(Cys1264Gly)	missense	nueva	LikelyP	1
		c.3804C>T	p.(Ser1268=)	synonymous	conocida	LikelyB	1
		c.3842G>A	p.(Cys1281Tyr)	missense	conocida	VUS	2
	Exón 20	c.4270T>G	p.(Phe1424Val)	missense	nueva	VUS	1
	Exón 22	c.4588C>T	p.(Arg1530Ter)	nonsense	conocida	P	1
	Intrón 25	c.5041+46C>T	-	intrónica	nueva	VUS	1
	Exón 26	c.5173delC	p.(Leu1725PhefsTer28)	frameshift	conocida	P	1
		c.5184C>A	p.(Cys1728Ter)	nonsense	conocida	P	1
	Exón 27	c.5386C>T	p.(Gln1796Ter)	nonsense	conocida	P	2
	Exón 31	c.5767C>T	p.(Pro1923Ser)	missense	nueva	VUS	1
	Intrón 32	c.5976-1G>A	-	intrónica	nueva	P	1
	Exón 34	c.6181G>A	p.(Gly2061Arg)	missense	nueva	LikelyB	1
	Intrón 35	c.6262+1delG	-	intrónica	conocida	P	1
	Intrón 35	c.6263-9877A>G	-	intrónica	nueva	VUS	1
	Exón 39	c.6818C>T	p.(Thr2273Met)	missense	nueva	LikelyB	1
	Exón 41	c.7228G>C	p.(Ala2410Pro)	missense	nueva	VUS	1
	Exón 42	c.7240G>A	p.(Gly2414Arg)	missense	nueva	VUS	2
	Exón 44	c.7753C>T	p.(Arg2585Trp)	missense	conocida	LikelyB	1
	Exón 45	c.7813C>T	p.(Arg2605Ter)	nonsense	nueva	P	1
		c.7851C>G	p.(Tyr2617Ter)	nonsense	nueva	LikelyP	1
	Exón 47	c.8144G>C	p.(Cys2715Ser)	missense	nueva	VUS	1
TPO n=16	Exón 5	c.387delC	p.(Asn129LysfsTer80)	frameshift	conocida	LikelyP	1
		c.478A>G	p.(Asn160Asp)	missense	conocida	VUS	1
	Exón 8	c.1184_1187dupGCCG	p.(Ala397ProfsTer76)	frameshift	conocida	P	1
		c.1312C>T	p.(Arg438Cys)	missense	nueva	VUS	1
	Exón 9	c.1450G>A	p.(Val484Met)	missense	nueva	VUS	1
		c.1522T>A	p.(Phe508Ile)	missense	nueva	VUS	1
	Exón 10	c.1618C>T	p.(Arg540Ter)	nonsense	conocida	P	1
	Exón 11	c.1943G>A	p.(Arg648Gln)	missense	conocida	VUS	1
		c.1978C>G	p.(Gln660Glu)	missense	conocida	LikelyP	1
		c.1993C>T	p.(Arg665Trp)	missense	conocida	VUS	1
	Intrón 13	c.2387-67G>A	-	intrónica	nueva	VUS	2
	Exón 14	c.2422delT	p.(Cys808AlafsTer24)	frameshift	conocida	P	1
		c.2422T>C	p.(Cys808Arg)	missense	conocida	P	2
		c.2512T>A	p.(Cys838Ser)	missense	conocida	VUS	1
	Exón 15	c.2578G>A	p.(Gly860Arg)	missense	conocida	VUS	1
	Intrón 15	c.2619-1G>C	-	intrónica	nueva	LikelyP	1
DUOX2 n=15	Intrón 5	c.514-49G>A	-	intrónica	nueva	VUS	1
	Exón 6	c.554A>G	p.(Tyr185Cys)	missense	nueva	VUS	1
	Exón 6	c.602dupG	p.(Gln202ThrfsTer99)	frameshift	conocida	P	1
	Exón 10	c.1060C>T	p.(Arg354Trp)	missense	conocida	VUS	1
	Exón 13	c.1498T>C	p.(Phe500Leu)	missense	nueva	VUS	1
	Exón 14	c.1588A>T	p.(Lys530Ter)	nonsense	conocida	P	1
	Exón 19	c.2444T>C	p.(Leu815Pro)	missense	nueva	VUS	1
		c.2654G>T	p.(Arg885Leu)	missense	conocida	VUS	1
	Exón 20	c.2654G>A	p.(Arg885Gln)	missense	conocida	VUS	1
		c.2895_2898del	p.(Phe966SerfsTer29)	frameshift	conocida	P	5
	Exón 23	c.2997delT	p.(Phe999LeufsTer26)	frameshift	nueva	P	1
	Exón 25	c.3329G>A	p.(Arg1110Gln)	missense	conocida	LikelyP	1
c.3391G>A		p.(Ala1131Thr)	missense	conocida	VUS	1	

GEN	Exón	Alteración nucleótido	Alteración aminoácido	Tipo mutación	Estado (HGMD)*	Patogenicidad (ACMG)*	n
	Exón 30	c.3901C>T	p.(Gln1301Ter)	<i>nonsense</i>	nueva	P	1
	Exón 33	c.4405G>A	p.(Glu1469Lys)	<i>missense</i>	conocida	VUS	1
PAX8	Exón 2	c.117C>A	p.(Ser59Arg)	<i>missense</i>	conocida	VUS	1
n = 5	Exón 4	c.196_198del	p.(Tyr66del)	<i>inframe</i>	nueva	LikelyP	1
	Exón 5	c.397C>T	p.(Arg133Trp)	<i>missense</i>	conocida	LikelyP	1
		c.398G>A	p.(Arg133Gln)	<i>missense</i>	conocida	LikelyP	2
	Exón 12	c.1334C>T	p.(Thr445Met)	<i>missense</i>	conocida	VUS	1
TSHR	Exón 1	c.100G>A	p.(Glu34Lys)	<i>missense</i>	conocida	VUS	1
	Exón 6	c.484C>G	p.(Pro162Ala)	<i>missense</i>	conocida	VUS	1
	Exón 9	c.767dup	p.(Asn256LysfsTer6)	<i>frameshift</i>	nueva	P	1
		c.770C>T	p.(Thr257Ile)	<i>missense</i>	nueva	VUS	1
	Exón 10	c.1349G>A	p.(Arg450His)	<i>missense</i>	conocida	LikelyP	1
		c.1657G>A	p.(Ala553Thr)	<i>missense</i>	conocida	VUS	1
DUOX2	Exón 5	c.738C>G	p.(Tyr246Ter)	<i>nonsense</i>	conocida	VUS	1
n = 1							
IYD	Exón 2	c.349G>A	p.(Asp117Asn)	<i>missense</i>	nueva	VUS	1
n = 1							

Tabla 22. Variantes genéticas. HGMD, The Human Gene Mutation Database; ACMG, American College of Medical Genetics and Genomics. Patogenicidad según criterios de la ACMG: VUS, variante de significado incierto; P, patogénica; LikelyP, probablemente patogénica; LikelyB, probablemente benigna; n, número de determinaciones. *Fecha de la última revisión del estado y la patogenicidad: abril 2020.

Se encontraron un total de 72 variantes distintas: 28 en el gen *TG*, 16 en *TPO*, 15 en *DUOX2*, 5 en *PAX8*, 6 en *TSHR*, 1 en *DUOX2* y 1 en *IYD*.

De estas 72 variantes, un total de 31 son nuevas (43%), es decir, no descritas previamente en la literatura ni en las bases de datos que contienen información sobre variantes descritas en los diferentes genes conocidos (HGMD).

Según la clasificación de la ACMG, 23 de estas variantes son patogénicas (32%), 10 probablemente patogénicas (13.9%), 35 VUS (48.6%) y 4 probablemente benignas (5.5%).

En los siguientes apartados se describirán las características de estas variantes, así como la localización de cada una de ellas en una representación esquemática del gen afecto.

2.3.1. VARIANTES EN EL GEN TG

Se identificaron 28 variantes diferentes en el gen *TG* en 23 pacientes distintos (18 portadores de variantes en heterocigosis compuesta/homocigosis y 5 portadores de variantes en heterocigosis). De las variantes encontradas, 16 (57.1%) no han sido previamente descritas en la literatura, 5 de las cuales se han clasificado como patogénicas según la ACMG.

El tipo de variante más frecuente en este gen fue la variante *missense* (n=11), seguida de variantes *nonsense* (n=10). Se encontraron 4 variantes intrónicas, 2 *frameshift* y 1 *synonymous*.

La variante más frecuente en *TG* fue la variante c.886C>T, p.(Arg296Ter), presente en 11 de los 23 pacientes, de los cuales 9, no están emparentados entre sí. Esta variante predice un cambio del aminoácido arginina en posición 296 por un codón de terminación y está clasificada como patogénica según la ACMG.

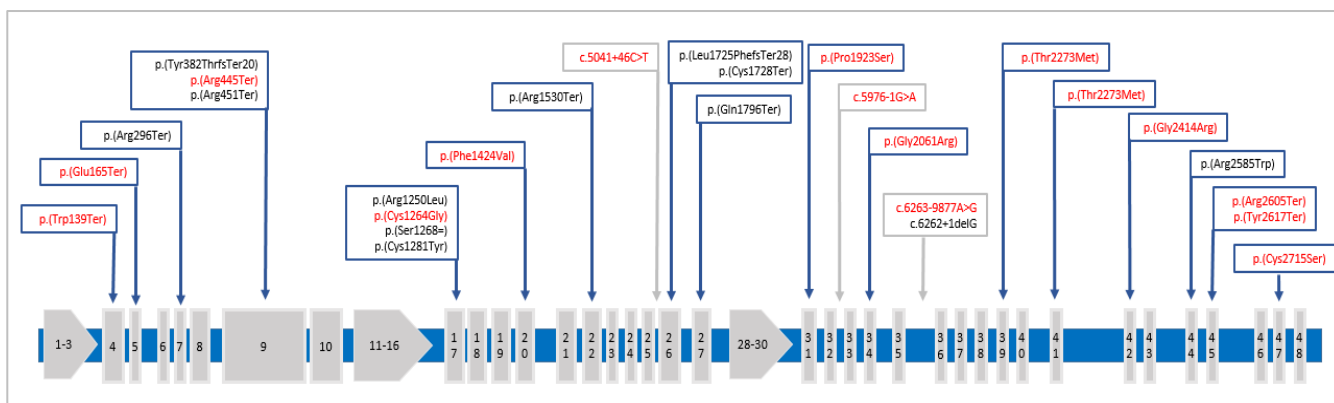


Figura 36. Representación esquemática del gen *TG*, adaptado de [171]. En cuadros azules, variantes exónicas; en cuadros grises, variantes intrónicas. Las variantes no descritas en la literatura se representan en rojo.

2.3.2. VARIANTES EN EL GEN *TPO*

Se identificaron 16 variantes diferentes en *TPO* en 11 pacientes de nuestra serie (10 portadores de variantes en heterocigosis compuesta/homocigosis y 1 portador de una variante en heterocigosis), de las cuales un total de 5 (31.2%) no han sido descritas previamente en la literatura.

De estas variantes, 10 fueron *missense*, 3 *frameshift*, 2 *intrónicas* y 1 *nonsense*.

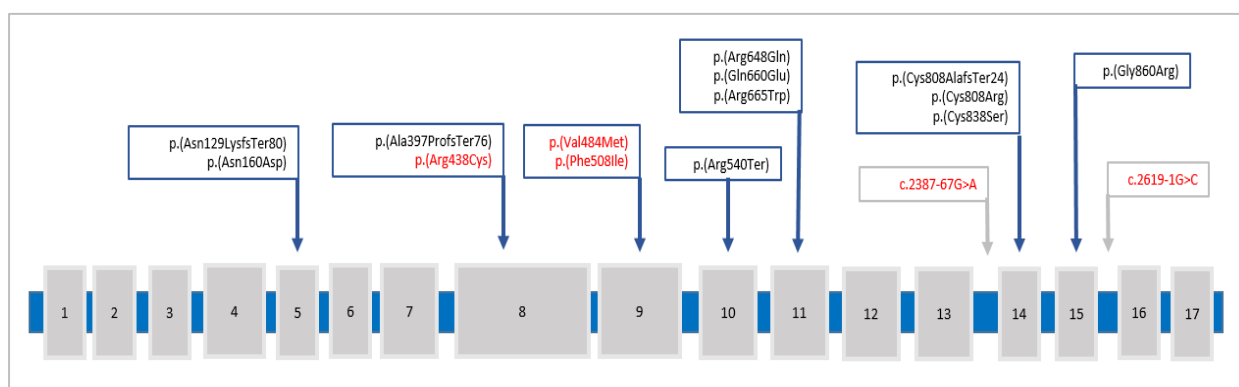


Figura 37. Representación esquemática del gen *TPO*, adaptado de^[172]. En cuadros azules, variantes exónicas; en cuadros grises, variantes intrónicas. Las variantes no descritas en la literatura se representan en rojo.

2.3.3. VARIANTES EN EL GEN *DUOX2*

Se identificaron 15 variantes en el gen *DUOX2* en 11 pacientes distintos (9 portadores de variantes en heterocigosis compuesta/homocigosis y 2 portadores de variantes en heterocigosis), de las cuales 6 no han sido previamente descritas (40%). De estas variantes no descritas, 2 han sido clasificadas como patogénicas según la ACMG.

El tipo de variante más frecuente fueron las variantes *missense* (n=9), seguidas del tipo *frameshift* (n=3), *nonsense* (n=2) e *intrónica* (n=1).

La variante más frecuente en este gen fue la variante patogénica c.2895_2898del, p.(Phe966SerfsTer29), presente en 5 de los 11 pacientes afectados, una delección de 4 nucleótidos que predice un cambio en la pauta de lectura a partir del aminoácido en posición 966 y que causa la aparición de un codón de terminación 29 aminoácidos más tarde dando lugar a una proteína *DUOX2* más corta.

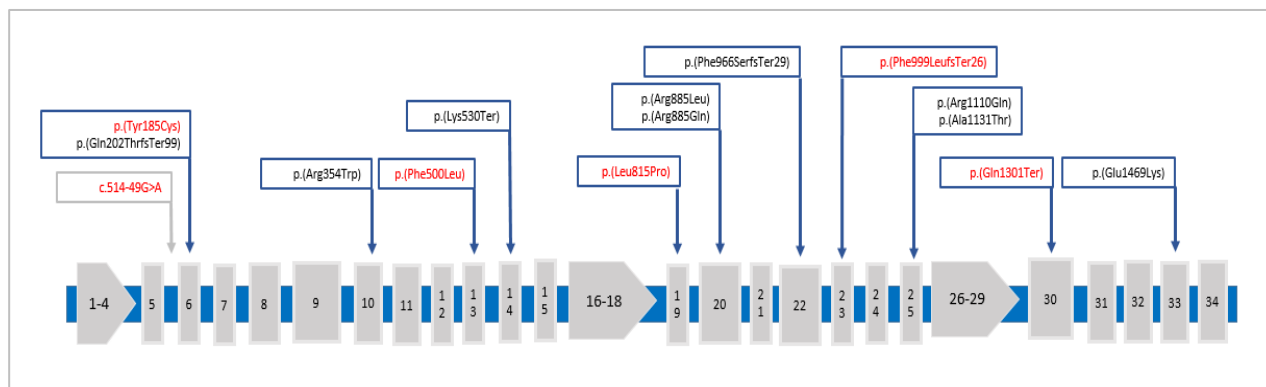


Figura 38. Representación esquemática del gen *DUOX2*, adaptado de^[173]. En cuadros azules, variantes exónicas; en cuadros grises, variantes intrónicas. Las variantes no descritas en la literatura se representan en rojo.

2.3.4. VARIANTES EN EL GEN *PAX8*

Se identificaron 5 variantes diferentes en *PAX8* en 5 de los pacientes analizados, de las cuales 1 de ellas no ha sido descrita previamente en la literatura.

De estas variantes, 4 fueron *missense* y 1 *inframe deletion*.

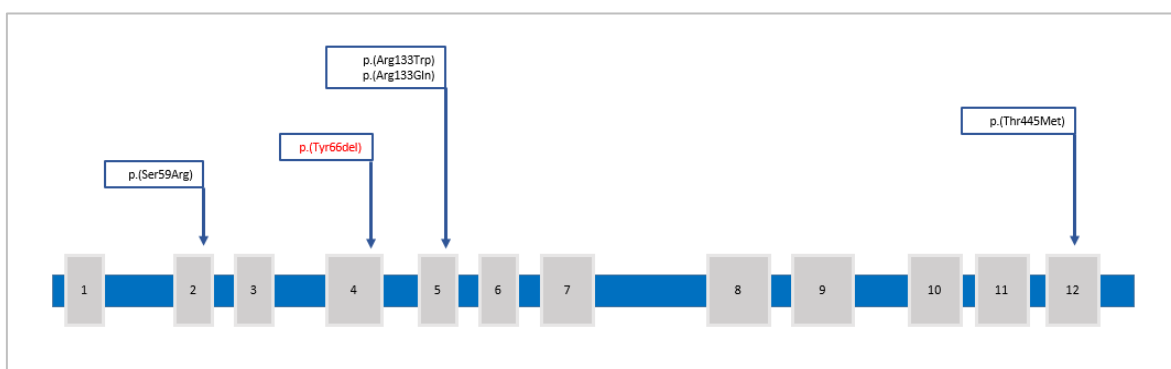


Figura 39. Representación esquemática del gen *PAX8*, adaptado de^[174]. En cuadros azules, variantes exónicas; en cuadros grises, variantes intrónicas. Las variantes no descritas en la literatura se representan en rojo.

2.3.5. VARIANTES EN EL GEN *TSHR*

Se identificaron 6 variantes distintas en los 4 pacientes con afectación del gen *TSHR*, de las cuales 2 no han sido descritas previamente. Una de estas variantes nuevas se clasifica como patogénica según los programas de predicción *in silico*.

Todas ellas excepto una (n=5) fueron del tipo *missense*. La otra variante fue del tipo *frameshift*.

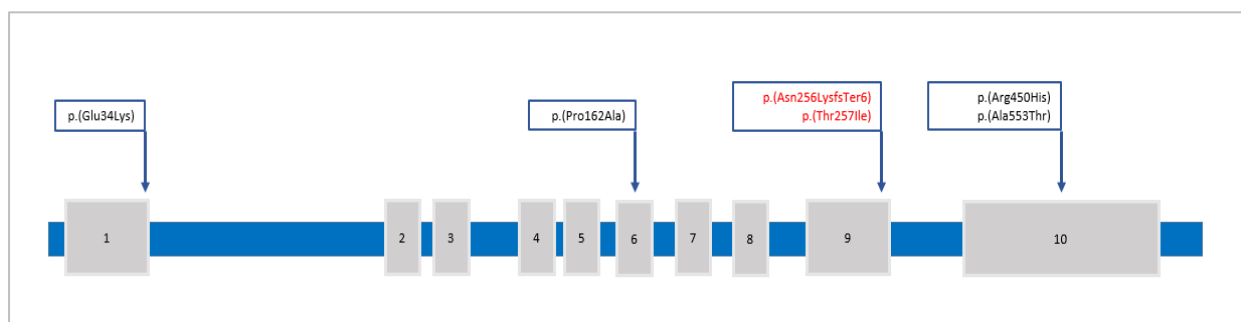


Figura 40. Representación esquemática del gen *TSHR*, adaptado de [175]. En cuadros azules, variantes exónicas; en cuadros grises, variantes intrónicas. Las variantes no descritas en la literatura se representan en rojo.

2.3.6. VARIANTES EN OTROS GENES

Se identificó una variante en el gen *DUOX2*, del tipo *nonsense*, ya conocida y clasificada como variante de significado incierto.

Se identificó una variante en el gen *IYD*, del tipo *missense*, no descrita en la literatura y clasificada como variante de significado incierto.

2.4. ESTUDIO DE COSEGREGACIÓN FAMILIAR

En 38 de los 54 pacientes en los que se detectaron variantes genéticas candidatas se efectuó el estudio genético molecular en sus progenitores (en ambos y, en algún caso, en alguno de ellos). Esto significa que disponemos de datos sobre la cosegregación familiar de la DT en el 70.3% de los pacientes de nuestra serie. Los resultados se detallan en la **Tabla 23**.


Progenitor portador	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)		Heterocigosis en genes con herencia autosómica recesiva (n=9)
	Homocigosis/Heterocigosis compuesta (n=40)	Heterocigosis en genes con herencia autosómica dominante (n=5)	
Un progenitor portador de una variante	3	4	3
Ambos progenitores portadores	26		
Un progenitor portador de las 2 variantes	2		
TOTAL	31	4	3

Tabla 23. Pacientes portadores de variantes genéticas en los que se ha realizado estudio de cosegregación familiar.

En 26 de los 40 pacientes con variantes en heterocigosis compuesta o homocigosis, se demostró que cada una de estas variantes se ha heredado de un progenitor, es decir, están en alelos distintos. En 2 de estos pacientes, las dos variantes detectadas son heredadas del mismo progenitor, es decir, están en el mismo alelo. En 3 pacientes de este grupo solo se pudo realizar el estudio genético en uno de los progenitores, siendo este portador de una de las dos variantes presentes en el/la hijo/a, pero se deduce que la otra variante se localiza en el otro alelo y, por lo tanto, proviene del otro progenitor no analizado o bien se trata de una variante *de novo*.

En 7 pacientes con variantes en heterocigosis simple (4 en genes con herencia autosómica dominante y 3 en genes con herencia autosómica recesiva) se ha confirmado que el padre o la madre también eran portadores de la variante encontrada en el/la hijo/a.

3. RELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

3.1. FENOTIPO CLÍNICO Y PRESENCIA DE VARIANTES GENÉTICAS

En este bloque se analizan las características clínicas de la cohorte en función de la presencia de variantes genéticas.

Para ello, la muestra se ha dividido en 3 grupos de pacientes. Por un lado, los niños con un diagnóstico molecular definitivo, grupo en el que se incluyen los pacientes que presentan variantes

en homocigosis, en heterocigosis compuesta y en heterocigosis simple en el caso de genes con herencia autosómica dominante. Este grupo, el más numeroso, está formado por un total de 45 pacientes. Por otro lado, un grupo de 9 pacientes que presentan variantes en heterocigosis en genes con herencia autosómica recesiva en los que, en un principio, su fenotipo clínico no se justificaría solo por la presencia de estas variantes en heterocigosis simple, hipótesis que será objeto de nuestro estudio. Finalmente, un último grupo formado por los 16 pacientes en los que no se ha encontrado ninguna variante genética en los genes analizados.

3.1.1. ANTROPOMETRÍA AL NACIMIENTO Y ANTECEDENTES FAMILIARES DE HIPOTIROIDISMO

En este apartado se analizan los datos antropométricos y la presencia de antecedentes familiares en los 3 grupos de pacientes.

	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n total
Edad gestacional (semanas)	n=45 39.2±1.9 IC [38.6;39.7]	n=8 39.9±0.6 IC [39.3;40.4]	n=16 38.9±1.4 IC [38.2;39.7]	0.36	69
Peso (gramos)	n=45 3200.1±557.2 IC [3032.7;3367.5]	n=8 3546.2±435.3 IC [3182.3;3910.2]	n=16 3262.2±435.3 IC [2942.5;3581.8]	0.36	69
Longitud (cm)	n=45 49.4±2.5 IC [48.6;50.1]	n=8 50.6±1.3 [49.5;51.7]	n=16 49.1±2.3 IC [47.9;50.3]	0.36	69
Perímetro cefálico (cm)	n=42 34.8±1.3 IC [34.4;35.3]	n=8 35±0.5 IC [34.6;35.4]	n=15 34.3±1.7 IC [33.3;35.2]	0.57	65
Antecedentes familiares				0.05	70
No	31 (68.9)	5 (55.6)	5 (31.2)		
Sí	14 (31.1)	4 (44.4)	11 (68.8)		

Tabla 24. Antropometría al nacimiento y presencia de antecedentes familiares en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como media±desviación estándar. Los valores expresados en la fila de antecedentes familiares se expresan en frecuencia total y porcentaje. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

Como se observa en la **Tabla 24**, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad gestacional ni a los valores de peso, longitud y perímetro cefálico al nacimiento entre los 3 grupos de pacientes.

En referencia a la presencia de antecedentes familiares de hipotiroidismo, vemos que sí hay diferencias entre los 3 grupos, siendo el grupo de pacientes sin variantes el que contó con una mayor proporción de pacientes con antecedentes familiares (68.8%). Por el contrario, el grupo de pacientes con diagnóstico molecular definitivo es el que presentó un mayor porcentaje de pacientes sin antecedentes familiares de hipotiroidismo (68.9%).

3.1.2. VALORES HORMONALES EN LA CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA

En este apartado se analizan los valores hormonales (TSH, FT4 y Tg) en el momento de la confirmación diagnóstica el día de la primera visita en la Unidad de Endocrinología Pediátrica del HUVH.

	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n total
TSH (mU/L)	n=45 278.2±223.8 295 (50.9,375) IC [210.9,345.4]	n=9 42.8±26.7 46.7 (15,61.6) IC [22.3,63.3]	n=16 96.4±125 57 (23.2,115.5) IC [29.7,163]	0.01	70
FT4 (ng/dL)	n=41 0.7±0.5 0.5 (0.3,1.1) IC [0.6,0.9]	n=8 1.3±0.3 1.2 (1.1,1.5) IC [1,1.5]	n=16 1.1±0.4 1.1 (0.9,1.4) IC [0.9,1.3]	0.01	65
Tg (ng/mL)	n=35 722.3±1037.9 300 (18.1,1232) IC [365.8,1078.8]	n=8 361.1±348.2 269 (92.2,521) IC [69.9,652.2]	n=14 235.5±304.7 170.5 (64,243.5) IC [59.5,411.4]	0.81	57

Tabla 25. Niveles hormonales en el momento de la confirmación diagnóstica en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En la **Tabla 25** vemos que los niveles más elevados de TSH confirmatoria (278.2±22.38 mU/L) los encontramos en el grupo de pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Estos niveles fueron notablemente más elevados que los obtenidos en los otros dos grupos (42.8±26.7 mU/L en los pacientes con variantes en heterocigosis, y 96.4±125 mU/L en los pacientes sin variantes). Por lo que se refiere a los niveles de FT4, estos están en concordancia con los niveles de TSH, siendo más

bajos cuanto más elevados son estos últimos. Los pacientes con diagnóstico molecular definitivo presentaron niveles de FT4 al diagnóstico de 0.7 ± 0.5 ng/dL, mientras que los de los grupos con variantes en heterocigosis y sin variantes de 1.3 ± 0.3 y 1.1 ± 0.4 mg/dL, respectivamente.

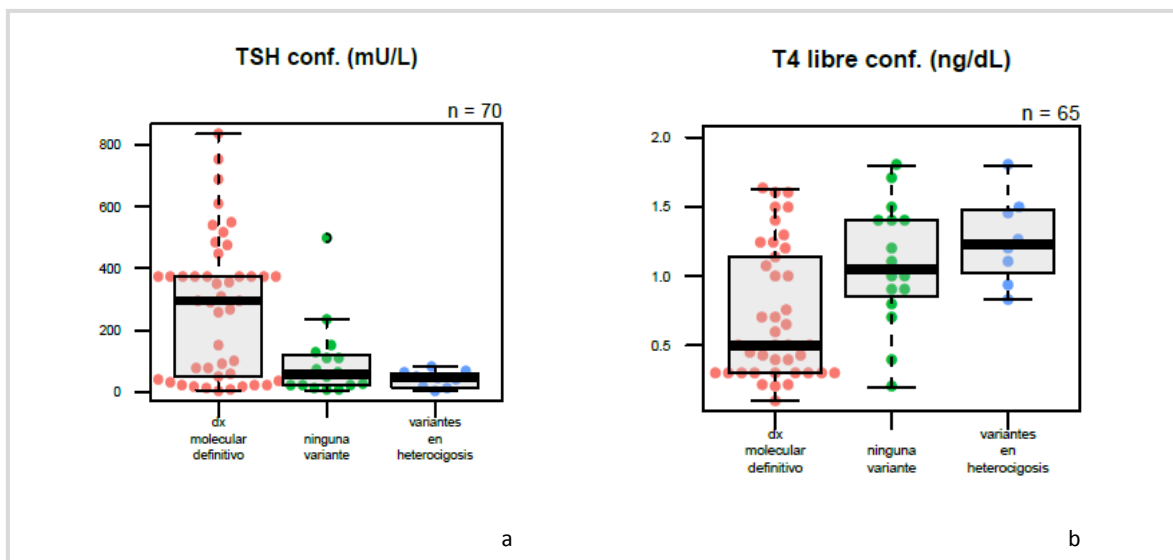


Figura 41. Niveles de TSH (a) y FT4 (b) al diagnóstico en los 3 grupos de pacientes.

En la **Figura 41** se pueden observar las diferencias, estadísticamente significativas, en los niveles de TSH y FT4 al diagnóstico en los 3 grupos de pacientes. Según estas cifras se puede constatar que los pacientes que se presentaron con un hipotiroidismo más severo son los del grupo con diagnóstico molecular definitivo, y los que tuvieron una menor disfunción tiroidea, los del grupo con variantes en heterocigosis.

Por lo que se refiere a los niveles de Tg, aunque en el grupo de pacientes con diagnóstico molecular definitivo se encontraron niveles más elevados (722.3 ± 1037.9 ng/mL) que en los otros dos, las diferencias no son estadísticamente significativas.

3.1.3. GAMMAGRAFÍA TIROIDEA EN LA CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA

En este apartado se describe qué patrón de captación gammagráfico presentan los pacientes en el momento del diagnóstico. Para ello, se han clasificado los pacientes de cada uno de los 3 grupos según el patrón gammagráfico al diagnóstico (ausencia total de captación, glándula normocaptante, glándula hipercaptante y glándula hipocaptante).

	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n
Ausencia total de captación	1 (2.5) IC [0.1,11.8]	1 (11.1) IC [0.3,48.2]	1 (7.1) IC [0.2,30.2]	0.05	3
Normocaptante	22 (55) IC [33.7,64.2]	4 (44.5) IC [13.7,78.8]	7 (50) IC [19.8,70.1]		33
Hipercaptante	12 (30) IC [14.6,24.1]	1 (11.1) IC [0.3,48.2]	0 (0) IC [0,20.6]		13
Hipocaptante	5 (12.5) IC [3.7,24.1]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	6 (42.9) IC [15.2,64.6]		14

Tabla 26. Patrón gammagráfico en el momento del diagnóstico en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

Como podemos ver en la **Tabla 26**, en el grupo de pacientes con diagnóstico molecular definitivo existía una clara predominancia de glándulas normocaptantes, siendo este el patrón gammagráfico al diagnóstico en más de la mitad de los pacientes (55%). Una parte significativa de este grupo de pacientes presentó una glándula hipercaptante al diagnóstico (30%).

Por lo que se refiere al grupo de pacientes con variantes en heterocigosis, un 44.5% de los pacientes presentó una glándula con captación normal y un 33.3% una glándula hipocaptante.

En los pacientes sin variantes se observaron glándulas normocaptantes en el 50% de ellos y hipocaptantes en el 42.9%.

En cada uno de los grupos, se encontró un paciente con ausencia total de captación en la gammagrafía.

Las diferencias en los patrones glandulares encontrados en los 3 grupos son estadísticamente significativas, por lo que podemos decir que las glándulas normocaptantes fueron las predominantes en los 3 grupos de pacientes, las hipercaptantes fueron más frecuentes en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo y, las hipocaptantes, en los pacientes sin variantes.

3.1.4. GRADO DE SEVERIDAD AL DIAGNÓSTICO

En este apartado se presentan los resultados respecto al grado de severidad al diagnóstico en los 3 grupos de pacientes. Se ha valorado el grado de severidad según los niveles de TSH, FT4 y ambas conjuntamente en el momento de la confirmación diagnóstica.

	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n
TSH > 50 mU/L	34 (75.6%) IC [60.5,87.1]	3 (37.5%) IC [8.5, 75.5]	8 (50%) IC [24.7, 75.3]	0.17	69
TSH 15-50 mU/L	8 (17.8%) IC [8, 32.1]	3 (37.5%) IC [8.5, 75.5]	5 (31.2%) IC [11, 58.7]		
TSH 10-14.9 mU/L	1 (2.2%) IC [0.1, 11.8]	1 (12.5%) IC [0.3, 52.7]	1 (6.2%) IC [0.2, 30.2]		
TSH < 10 mU/L	2 (4.4%) IC [0.5, 15.1]	1 (12.5%) IC [0.3, 52.7]	2 (12.6%) IC [1.6, 38.3]		

Tabla 27. Grado de severidad al diagnóstico estratificado por niveles de TSH en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 27** vemos que los pacientes que presentaron un mayor grado de severidad según los niveles de TSH fueron los del grupo con diagnóstico molecular definitivo, ya que un 75.6% de estos presentaron niveles de TSH superiores a 50 mU/L y un 17.8% niveles de entre 15 y 50 mU/L. Por otro lado, el 50% de los pacientes sin variantes presentó también niveles de TSH superiores a 50 mU/L, mientras que solo el 37.5% de los pacientes con variantes en heterocigosis presentó estas cifras de TSH al diagnóstico. Las diferencias entre los 3 grupos no son, sin embargo, estadísticamente significativas. Cabe destacar que se encontraron 2 pacientes con niveles de TSH inferior a 10 mU/L en el grupo de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo, los cuales se analizarán más detalladamente en el apartado 6 (página 149).

	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n
Leve FT4 > 0.8 ng/dL	14 (34.1%) IC [20.1, 50.6]	8 (100%) IC [63.1, 100]	13 (81.2%) IC [54.4, 96]	0.01	65
Moderada FT4 0.4-0.8 ng/dL	12 (29.3%) IC [16.1, 45.5]	0 (0%) IC [0, 36.9]	1 (6.3%) IC [0.2, 30.2]		
Severa FT4 <0.4 ng/dL	15 (36.6%) IC [22.1, 53.1]	0 (0%) IC [0, 36.9]	2 (12.5%) IC [1.6, 38.3]		

Tabla 28. Grado de severidad al diagnóstico estratificado por niveles de FT4 en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 28** vemos que el 100% de los pacientes con variantes en heterocigosis y el 81.2% de los pacientes sin variantes presentó un grado de severidad leve (FT4 superior a 0.8 ng/dL) y que, en cambio, un 36.6% de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo presentó un grado severo de hipotiroidismo (FT4 inferior a 0.4 ng/dL) y un 29.3% un grado moderado (FT4 entre 0.4 y 0.8 ng/dL). Solo un 34.1% de los pacientes de este último grupo presentó un grado leve de hipotiroidismo al diagnóstico. Debemos señalar que, en el grupo de los pacientes sin variantes, se encontraron 2 pacientes con un hipotiroidismo severo y 1 con una disfunción moderada, las características clínicas de los cuales se describirán en el apartado 5.1 (página 134). Las diferencias entre los 3 grupos de pacientes respecto a sus niveles de FT4 al diagnóstico son estadísticamente significativas, por lo que podemos confirmar que, según los niveles de esta hormona, los pacientes con diagnóstico molecular definitivo fueron los que presentan mayor grado de severidad y los pacientes con variantes en heterocigosis los que presentaron la afectación más leve.

	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n
TSH >50 mU/L y FT4 < 0.8 ng/dL	27 (65.9%) IC [49.4, 79.9]	0 (0%) IC [0, 36.9]	3 (18.8%) IC [4, 45.6]	0.01	65
TSH > 50 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	3 (7.3%) IC [1.5, 19.9]	3 (37.5%) IC [8.5, 75.5]	5 (31.2%) IC [11, 58.7]		
TSH 15-49 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	8 (19.5%) IC [8.8, 34.9]	3 (37.5%) IC [8.5, 75.5]	5 (31.2%) IC [11, 58.7]		
TSH 10-14.9 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	1 (2.4%) IC [0.1, 12.9]	1 (12.5%) IC [0.3, 52.7]	1 (6.3%) IC [0.2, 30.2]		
TSH <10 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	2 (4.9%) IC [0.6, 16.5]	1 (12.5%) IC [0.3, 52.7]	2 (12.5%) IC [1.6, 38.3]		

Tabla 29. Grado de severidad al diagnóstico estratificado por niveles de TSH y FT4 en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

Cuando clasificamos a los pacientes según la combinación de los niveles de TSH y FT4, también encontramos diferencias estadísticamente significativas (**Tabla 29**). Vemos que la mayoría de los pacientes (65.9%) con diagnóstico molecular definitivo presentó el grado más severo de hipotiroidismo (TSH >50 mU/L y FT4 < 0.8 ng/dL). Todos los pacientes con variantes en heterocigosis presentaron niveles de FT4 superiores a 0.8 ng/dL, siendo los niveles de TSH superiores a 50 mU/L en un 37.5% de ellos. Por lo que se refiere al grupo de pacientes sin variantes, un 18.8% de los pacientes presentó un grado severo de hipotiroidismo y, el resto, valores de FT4 superiores a 0.8 ng/dL, con niveles de TSH de más de 50 mU/L en un 31.2% de ellos. Los 3 pacientes sin variantes que presentaron un hipotiroidismo severo se analizarán con más detalle en el apartado 5.1 (página 134).

3.1.5. DOSIS DE LT4 REQUERIDAS DURANTE SU EVOLUCIÓN

En este apartado se analiza la dosis de LT4 requerida al año, 2 años y 4 años de vida en los 3 grupos de pacientes.

Dosis LT4 (mcg/kg/día)	Diagnóstico molecular definitivo (n=45)	Variantes en heterocigosis (n=9)	Sin variantes (n=16)	p valor ajustado	n
1 año de vida	41 3.9±1 IC [3.6,4.2]	7 2.7±0.8 IC [2,3.4]	12 3.5±0.8 IC [2.9,4]	0.03	60
2 años de vida	39 3.7±1.1 IC [3.3,4]	6 2.4±0.6 IC [1.8,3]	11 2.6±0.5 IC [2.3,3]	0.01	56
4 años de vida	32 3.4±1 IC [3,3.7]	3 2.5±0.4 IC [1.5,3.6]	7 2±0.7 IC [1.3,2.7]	0.01	42

Tabla 30. Dosis de LT4 requerida en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como media±desviación estándar. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 30** vemos que el grupo que precisó las dosis de LT4 más elevadas fue el de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. En este grupo, los pacientes recibieron una dosis de 3.9±1 mcg/kg/día al año de vida, y de 3.7±1.1 y 3.4±1 mcg/kg/día a los 2 y 4 años, respectivamente. Por el contrario, el grupo que precisó una menor dosis de LT4 fue el de los pacientes con variantes en heterocigosis, con una dosis de 2.7±0.8 mcg/kg/día al año de vida y de 2.4±0.6 mcg/kg/día y 2.5±0.4 mcg/kg/día a los 2 y 4 años, respectivamente. El grupo de pacientes sin variantes precisó unas dosis de 3.5±0.8 mcg/kg/día al año de vida, una dosis que se acerca más a la de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo que a los pacientes con variantes en heterocigosis, y de 2.6±0.5 mcg/kg/día a los 2 años. Este grupo de pacientes es el que precisó una menor dosis de LT4 a los 4 años de edad (2.0±0.7 mcg/kg/día). Las diferencias entre los 3 grupos en cuanto a las dosis de LT4 requeridas son estadísticamente significativas (**Figura 42**).

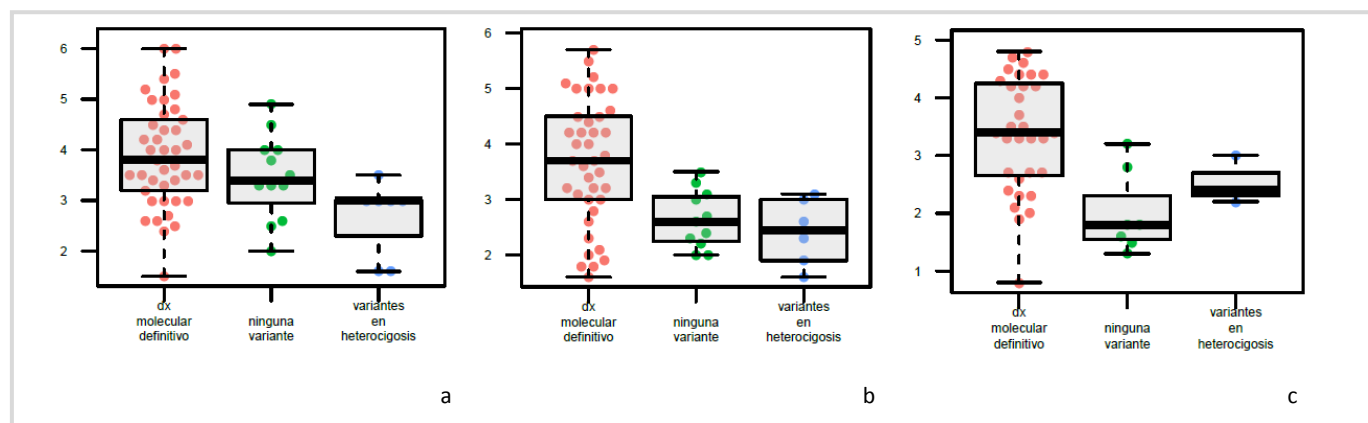


Figura 42. Dosis de LT4 requerida en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas al año de vida (a), a los 2 años de vida (b) y a los 4 años de vida (c). En rosa, diagnóstico molecular definitivo; en verde, sin variantes; en azul, variantes en heterocigosis.

3.1.6. REEVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

En este apartado se detallan los resultados analíticos y de imagen obtenidos en los pacientes reevaluados según la presencia de variantes genéticas, empleando la misma clasificación que en los apartados anteriores (pacientes con diagnóstico molecular definitivo, pacientes con variantes en heterocigosis y pacientes sin variantes).

	Diagnóstico molecular definitivo (n=23)	Variantes en heterocigosis (n=6)	Sin variantes (n=12)	p valor ajustado	n
TSH reevaluación (mU/L)	23 107.4±95.3 103 (18.7,169.4) IC [66.2,148.6]	6 9.7±5.6 46.7 (6.5,13.9) IC [3.8,15.6]	12 6.1±4.8 4.9 (2.6,6.3) IC [3,9.1]	<0.001	41
FT4 reevaluación (ng/dL)	23 0.7±0.4 0.7 (0.3,1) IC [0.5,0.9]	6 1.1±0.2 1.1 (1,1.3) IC [0.9,1.3]	12 1.1±0.2 1.1 (1,1.2) IC [1,1.2]	0.01	41

Tabla 31. Valores hormonales en el momento de la reevaluación diagnóstica en los 3 grupos de pacientes clasificados según la presencia de variantes genéticas. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 31** podemos ver que los niveles de TSH en la reevaluación fueron significativamente más elevados en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo (107.4±95.3 mU/L) respecto a

los otros dos grupos. Los pacientes con variantes en heterocigosis presentaron niveles de TSH de 9.7 ± 5.6 mU/L y los pacientes sin variantes presentaron los niveles más bajos, de 6.1 ± 4.8 mU/L.

En referencia a los niveles de FT4, el grupo con diagnóstico molecular definitivo fue el que presentó los niveles más bajos, de 0.7 ± 0.4 ng/dL. Los otros dos grupos presentaron niveles de FT4 de 1.1 ± 0.2 ng/dL.

Las diferencias de ambos niveles hormonales entre los 3 grupos son estadísticamente significativas, por lo que podemos afirmar que el grupo con diagnóstico molecular definitivo fue el que presentó mayor nivel de gravedad del hipotiroidismo en el momento de la reevaluación diagnóstica.

	Hipotiroidismo permanente	Hipotiroidismo transitorio	Total
Diagnóstico molecular definitivo	21 (91.3)	2 (8.7)	23
Variantes en heterocigosis	2 (33.4)	4 (66.6)	6
Sin variantes	2 (16.6)	10 (83.4)	12
Total	25 (61)	16 (39)	41

Tabla 32. Diagnóstico definitivo en la reevaluación en cada grupo de pacientes. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje.

En la **Tabla 32** podemos ver como se distribuyó el diagnóstico en la reevaluación en cada grupo de pacientes.

De los 23 pacientes con diagnóstico molecular definitivo reevaluados, 21 (91.3%) presentaron un hipotiroidismo permanente y solo 2 (8.7%) presentaron un hipotiroidismo transitorio o hipertirotrópinemia. Por el contrario, un 83.4% de los pacientes sin variantes, presentó un hipotiroidismo transitorio. En el apartado 5 (página 134) se analizarán los resultados en la reevaluación de cada uno de estos pacientes, teniendo en cuenta el gen afecto y las distintas variantes encontradas.

3.2. FENOTIPO CLÍNICO SEGÚN EL GEN AFECTO EN LOS PACIENTES CON DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEFINITIVO

En este bloque se analizan las características clínicas de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Para ello, los pacientes se han clasificado según el gen que está alterado, dando lugar a los siguientes 5 grupos: *TG*, *TPO*, *DUOX2*, *PAX8* y *TSHR*.

3.2.1. ANTROPOMETRÍA AL NACIMIENTO Y ANTECEDENTES FAMILIARES DE HIPOTIROIDISMO

En este apartado se describen los datos antropométricos y la presencia de antecedentes familiares de hipotiroidismo en los 5 grupos de pacientes.

	<i>TG</i> n=18	<i>TPO</i> n=10	<i>DUOX2</i> n=9	<i>PAX8</i> n=5	<i>TSHR</i> n=3	p valor ajustado	n
Edad gestacional (semanas)	39.6±2.3 IC [38.5,40.8]	38.3±1.3 IC [37.4,39.2]	39.3±2.2 IC [37.7,41]	39.2±1.1 IC [37.8,40.6]	38.7±0.6 IC [37.2,40.1]	0.17	45
Peso (gramos)	3332.5±547.9 IC[3060,3605]	3102±685 IC[2612,3592]	3184.4±482.3 IC[2813.7,3555.2]	2990±338.3 IC[2569.9,3410.1]	3130 ±826 IC[1078.1,5181.9]	0.58	45
Longitud (cm)	49.5±2.7 IC[48.1,50.8]	49.3±2.5 IC[47.5,51.1]	49.7±2.7 IC[47.7,51.8]	48.9±1.2 IC[47.4,50.4]	48.7±3.3 IC[40.456.9]	0.89	45
Perímetro cefálico (cm)	35.1±1.3 IC[34.4,35.8]	34.7±1.1 IC[33.8,35.6]	34.8±1.4 IC[33.7,35.9]	34.5±1 IC[33.3,35.7]	34±2.8 IC[8.6,59.4]	0.67	42
Antecedentes familiares							
No	11 (61.1)	8 (80)	7 (77.8)	3 (60)	2 (66.7)	0.86	45
Sí	7 (38.9)	2 (20)	2 (22.2)	2 (40)	1 (33.3)		

Tabla 33. Antropometría al nacimiento y presencia de antecedentes familiares según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como media±desviación estándar. Los valores expresados en la fila antecedentes familiares se expresan en frecuencia total y porcentaje. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 33** vemos que la edad gestacional y los valores de peso, longitud y perímetro cefálico fueron muy similares en los 5 grupos, no existiendo diferencias estadísticamente significativas. La presencia de antecedentes familiares de hipotiroidismo fue ligeramente más frecuente en los pacientes con variantes en *TG* y *PAX8*, aunque las diferencias tampoco son significativas.

3.2.2. VALORES HORMONALES EN LA CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA

En este apartado se analizan los valores hormonales (TSH, FT4 y Tg) en la confirmación diagnóstica según el gen afecto.

	<i>TG</i> n=18	<i>TPO</i> n=10	<i>DUOX2</i> n=9	<i>PAX8</i> n=5	<i>TSHR</i> n=3	p valor ajustado	n
TSH (mU/L)	320.2±243.1 363.8(79.1, 510) IC [199.4,441.1]	415.3±196.9 375(355.2, 466.8) IC[274.5,556.1]	181.9±146 257(35.4, 294) IC[69.7,294.1]	162.2±194.8 42(13.6, 375) IC[0,404]	51±42.9 33.2(26.6, 66.6) IC[0,157.7]	0.08	45
FT4 (ng/dL)	0.7±0.5 0.5(0.4, 1) IC[0.5,1]	0.4±0.2 0.3(0.2, 0.5) IC[0.2,0.5]	0.8±0.5 0.6 (0.4, 1.2) IC[0.4,1.1]	1±0.5 1.2(0.9, 1.3) IC[0.2,1.8]	1.3±0.3 1.3(1.2, 1.4) IC[0,3.6]	0.13	41
Tg (ng/mL)	142.4±336.1 8.1(0.2, 64.1) IC[0,336.5]	1457.2±1014.1 1367 (874.5, 1752.8) IC[609.5,2305]	1371.8±1402 1238.5(534.5, 1402.5) IC[199.7,2543.9]	192.7±94.7 157 (139, 228.5) IC[0, 427.9]	38.9±21 38.9(31.4, 46.3) IC[0,227.5]	0.01	35

Tabla 34. Niveles hormonales en el momento del diagnóstico según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico; IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En la **Tabla 34** se detallan los valores hormonales al diagnóstico en cada grupo de pacientes. Respecto a los niveles de TSH, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas, el grupo con los valores más elevados de TSH al diagnóstico fue el de los pacientes con variantes en *TPO* (415.3±196.9 mU/L), seguido de los pacientes con variantes en *TG* (320.2±243.1 mU/L). Los pacientes con niveles más bajos de TSH al diagnóstico fueron los del grupo con variantes en *TSHR* (51±42.9 mU/L).

Por lo que se refiere a los niveles de FT4 al diagnóstico, los más bajos se encontraron en los pacientes con variantes en *TPO* (0.4±0.2 ng/dL) y *TG* (0.7±0.5 ng/dL), con unas medianas de 0.3 y 0.5 ng/dL respectivamente. En *DUOX2* los valores de FT4 fueron de 0.8±0.5 ng/dL y en *PAX8* y *TSHR* de 1±0.5 y 1.3±0.3 ng/dL, respectivamente. Las diferencias en los niveles de esta hormona no son estadísticamente significativas.

En cuanto a los niveles de Tg al diagnóstico, sí que se han encontrado diferencias estadísticamente significativas (**Figura 43**). Cabe destacar unos niveles particularmente elevados en el grupo de los pacientes con variantes en *TPO* (1457.2±1014.1 ng/mL) y *DUOX2* (1371.8±1402 ng/mL). En los pacientes con variantes en *TG* y *PAX8*, los niveles fueron similares (142.4±336.1 y 192.7±94.7 ng/mL, respectivamente) y los más bajos se hallaron en los pacientes con alteración en el gen *TSHR* (38.9±21 ng/mL).

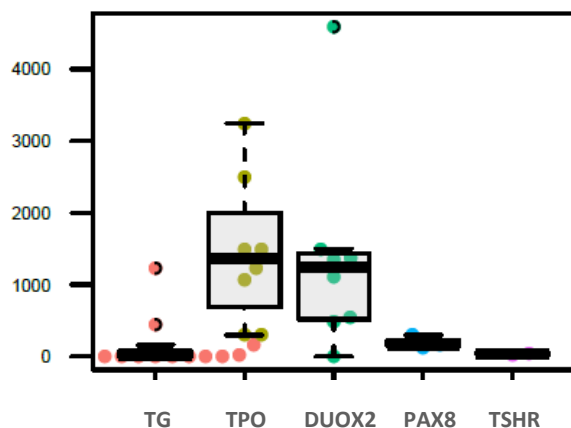


Figura 43. Valores de Tg confirmatoria (ng/mL) en los 5 grupos de pacientes según el gen afecto.

3.2.3. GAMMAGRAFÍA TIROIDEA EN LA CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA

En este apartado, se describe el patrón gammagráfico en el momento del diagnóstico en cada grupo de pacientes.

	<i>TG</i> n=18	<i>TPO</i> n=10	<i>DUOX2</i> n=9	<i>PAX8</i> n=5	<i>TSHR</i> n=3	p valor ajustado	n
Ausencia total de captación	0 (0) IC [0,19.5]	0 (0) IC [0,36.9]	0 (0) IC [0,33.6]	1 (25) IC [0.6,80.6]	0 (0) IC [0,84.2]	0.05	40
Normocaptante	11 (64.7) IC [38.3,85.8]	6 (75) IC [34.9, 96.8]	4 (44.4) IC [13.7,78.8]	1 (25) IC [0.6,80.6]	0 (0) IC [0,84.2]		
Hipercaptante	5 (29.4) IC [10.3,56]	2 (25) IC [3.2,65.1]	5 (55.6) IC [21.2,86.3]	0 (0) IC [0,60.2]	0 (0) IC [0,84.2]		
Hipocaptante	1 (5.9) IC [0.1,28.7]	0 (0) IC [0,36.9]	0 (0) IC [0,33.6]	2 (50) IC [6.8,93.2]	2 (100) IC [15.8,100]		

Tabla 35. Patrón gammagráfico en el momento del diagnóstico según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la mayoría de los pacientes presentaron glándulas con captación normal de radioisótopo en el momento del diagnóstico. En la **Tabla 35** se puede objetivar que este patrón fue especialmente frecuente en pacientes con variantes en *TG* y *TPO*. Un 64.7% de los pacientes con variantes en *TG* presentaron glándulas normocaptantes al diagnóstico, mientras

que un 29.4%, hipercaptantes. En el grupo de pacientes con variantes en *TPO*, la distribución fue similar, presentando un 75% de los pacientes glándulas normocaptantes y un 25% glándulas hipercaptantes.

En el grupo de pacientes con variantes en *DUOX2*, en cambio, la mayoría de los pacientes presentaron glándulas hipercaptantes (55.6%), mientras que el 44.4% presentaron glándulas normocaptantes.

Los pacientes con variantes en *PAX8* presentaron patrones de captación diversos y el 100% de los pacientes con variantes en *TSHR*, glándulas hipocaptantes.

Las diferencias entre los grupos, por lo que se refiere al patrón gammagráfico al diagnóstico, son estadísticamente significativas.

3.2.4. GRADO DE SEVERIDAD AL DIAGNÓSTICO

En este apartado se presentan los resultados respecto al grado de severidad al diagnóstico según el gen afecto. Se ha valorado el grado de severidad según los niveles de TSH, FT4 y ambas conjuntamente en el momento de la confirmación diagnóstica.

	<i>TG</i> n=18	<i>TPO</i> n=10	<i>DUOX2</i> n=9	<i>PAX8</i> n=5	<i>TSHR</i> n=3	p valor ajustado	n
TSH > 50 mU/L	15 (83.3) IC [58.6,96.4]	10 (100) IC [69.2,100]	6 (66.7) IC [29.9,92.5]	2 (40) IC [5.3,85.3]	1 (33.3) IC [0.8,90.6]	0.08	45
TSH 15-50 mU/L	2 (11.1) IC [1.4,34.7]	0 (0) IC [0,30.8]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	1 (20) IC [0.5,71.6]	2 (66.7) IC [9.4,99.2]		
TSH 10-14.9 mU/L	0 (0) IC [0,18.5]	0 (0) IC [0,30.8]	0 (0) IC [0,33.6]	1 (20) IC [0.5,71.6]	0 (0) IC [0,70.8]		
TSH < 10 mU/L	1 (5.6) IC [0.1,27.3]	0 (0) IC [0,30.8]	0 (0) IC [0,33.6]	1 (20) IC [0.5,71.6]	0 (0) IC [0,70.8]		

Tabla 36. Grado de severidad al diagnóstico estratificado por niveles de TSH según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

Las diferencias en los niveles de TSH al diagnóstico entre los 5 grupos de pacientes no son estadísticamente significativas. En la **Tabla 36** podemos ver que, en todos los grupos, excepto en el de variantes en *TSHR*, los niveles de TSH al diagnóstico fueron superiores a 50 mU/L en la mayoría de los casos.

En el grupo con variantes en *TSHR* un 66.7% de los pacientes presentaron niveles de TSH de entre 15 y 50 mU/L y el 33.3% restante, niveles superiores a 50 mU/L.

En el grupo con variantes en *TG*, los niveles de TSH al diagnóstico fueron superiores a 50 mU/L en el 83.3% de los pacientes, mientras que en el 11.1% se encontraron entre 15 y 50 mU/L. En 1 paciente se encontraron niveles por debajo de 10 mU/L.

En el caso del grupo de pacientes con variantes en *TPO*, el 100% de los pacientes presentaron niveles de TSH por encima de 50 mU/L.

Un 66.7% de los pacientes con variantes en *DUOX2* presentaron niveles de TSH superiores a 50 mU/L y, el resto, de entre 15 y 50 mU/L.

Un 40% de los pacientes con variantes en *PAX8* presentaron niveles de TSH superiores a 50 mU/L, un 20% entre 15 y 50 mU/L, un 20% entre 10 y 14.9 mU/L, y el 20% restante inferiores a 10 mU/L.

	<i>TG</i> n=18	<i>TPO</i> n=10	<i>DUOX2</i> n=9	<i>PAX8</i> n=5	<i>TSHR</i> n=3	p valor ajustado	n
Leve FT4 > 0.8 ng/dL	6 (35.3) IC [14.2,61.7]	0 (0) IC [0,33.6]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	3 (75) IC [19.4,99.4]	2 (100) IC [15.8,100]	0.15	41
Moderada FT4 0.4-0.8 ng/dL	6 (35.3) IC [14.2,61.7]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	0 (0) IC [0,60.2]	0 (0) IC [0,84.2]		
Severa FT4 <0.4 ng/dL	5 (29.4) IC [10.3,56]	6 (66.7) IC [29.9,92.5]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	1 (25) IC [0.6,80.6]	0 (0) IC [0,84.2]		

Tabla 37. Grado de severidad al diagnóstico estratificado por niveles de FT4 según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

Por lo que se refiere a los niveles de FT4 al diagnóstico, tampoco se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos (**Tabla 37**).

Debemos remarcar que el hipotiroidismo en los pacientes con variantes en *TPO* fue de grado severo en un 66.7% y moderado en un 33.3%. Por lo contrario, en los pacientes con variantes en *TSHR* el

grado de hipotiroidismo fue leve en todos ellos. En el grupo de *PAX8*, el hipotiroidismo fue leve en un 75% de los casos y severo en el 25% restante.

Un 35.3% de los pacientes con variantes en *TG* presentaron un hipotiroidismo leve al diagnóstico, un 35.3% hipotiroidismo moderado, y un 29.4% hipotiroidismo severo.

En el caso de los pacientes con alteración en el gen *DUOX2*, un 33.3% de ellos se presentaron con hipotiroidismo leve, otro 33.3% con hipotiroidismo moderado y el 33.3% restante con hipotiroidismo severo.

	<i>TG</i> n=18	<i>TPO</i> n=10	<i>DUOX2</i> n=9	<i>PAX8</i> n=5	<i>TSHR</i> n=3	p valor ajustado	n
TSH >50 mU/L y FT4 < 0.8 ng/dL	11 (64.7) IC [38.3, 85.8]	9 (100) IC [66.4,100]	6 (66.7) IC [29.9,92.5]	1 (25) IC [0.6,80.6]	0 (0) IC [0,84.2]	0.08	41
TSH > 50 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	3 (17.6) IC [3.8,43.4]	0 (0) IC [0,33.6]	0 (0) IC [0,33.6]	0 (0) IC [0,60.2]	0 (0) IC [0,84.2]		
TSH 15-49 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	2 (11.8) IC [1.5,36.4]	0 (0) IC [0,33.6]	3 (33.3) IC [7.5,70.1]	1 (25) IC [0.6,80.6]	2 (100) IC [15.8,100]		
TSH 10-14.9 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	0 (0) IC [0,19.5]	0 (0) IC [0,33.6]	0 (0) IC [0,33.6]	1 (25) IC [0.6,80.6]	0 (0) IC [0,84.2]		
TSH <10 mU/L y FT4 > 0.8 ng/dL	1 (5.9) IC [0.1,28.7]	0 (0) IC [0,33.6]	0 (0) IC [0,33.6]	1 (25) IC [0.6,80.6]	0 (0) IC [0,84.2]		

Tabla 38. Grado de severidad al diagnóstico estratificado por niveles de TSH y FT4 según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

Cuando clasificamos a los pacientes según la combinación de los niveles de TSH y FT4, tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas.

En la **Tabla 38** podemos ver que la mayoría de los pacientes con variantes en *TG* y *DUOX2* presentaron niveles de TSH superiores a 50 mU/L con FT4 inferior a 0.8 ng/dL al diagnóstico (64.7% y 66.7%, respectivamente) y que el 100% de los casos con variantes en *TPO* presentaron estos niveles hormonales. En el grupo *PAX8*, la distribución de la severidad fue menos uniforme, y el 100% de los casos con variantes en *TSHR* presentaron unos niveles de TSH de entre 15 y 49 mU/L con FT4 superior a 0.8 ng/dL.

3.2.5. DOSIS DE LT4 REQUERIDAS DURANTE SU EVOLUCIÓN

En este apartado se detallan las dosis de LT4 requeridas al año, a los 2 años y a los 4 años de vida en cada uno de los grupos según el gen afecto.

Dosis LT4 (mcg/kg/día)	TG n=18	TPO n=10	DUOX2 n=9	PAX8 n=5	TSHR n=3	p valor ajustado	n
1 año de vida	18 3.8±1 IC [3.3,4.2]	8 4.7±1 IC [3.9,5.6]	8 3.3±0.8 IC [2.6,4]	4 3.7±0.9 IC [2.3,5.1]	3 4.2±1.4 IC [0.8,7.7]	0.14	41
2 años de vida	15 3.8±1.2 IC [3.1,4.4]	9 4.5±0.7 IC [3.9,5.1]	7 3.2±1 IC [2.3,4.1]	5 3.2±1.3 IC [1.6,4.8]	3 2.8±0.8 IC [0.8,4.9]	0.14	39
4 años de vida	13 3.2±1.1 IC [2.5,3.8]	7 4.2±0.4 IC [3.8,4.5]	4 2.8±0.6 IC [1.8,3.8]	5 3±0.9 IC [1.8,4.2]	3 3.8±1 IC [1.4,6.2]	0.15	32

Tabla 39. Dosis de LT4 requerida según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como media±desviación estándar. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

Aunque no existen diferencias estadísticamente significativas, en la **Tabla 39** vemos que, claramente, el grupo que precisó unas dosis más altas de LT4 en todos los momentos estudiados fue el de los pacientes con variantes en *TPO* (dosis medias de entre 4.2 y 4.7 mcg/kg/día).

Las dosis requeridas en el grupo con variantes en *TG*, fueron de 3.8 mcg/kg/día al año y los 2 años de vida y de 3.2 mcg/kg/día a los 4 años. En los grupos con variantes en *DUOX2* y *PAX8* las dosis necesarias fueron ligeramente inferiores que en el grupo *TG*.

Vemos que la tendencia en todos los grupos, excepto en el grupo *TSHR* es que, a mayor edad, menor dosis se precisaba. En el grupo con variantes en *TSHR*, las dosis requeridas fueron de 4.2 mcg/kg/día y 2.8 mcg/kg/día al año y a los 2 años, respectivamente. A los 4 años las dosis medias fueron superiores respecto a los 2 años (3.8 mcg/kg/día).

3.2.6. REEVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

En este apartado se describen los resultados en la reevaluación diagnóstica de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo según el gen afecto.

	TG n=9	TPO n=6	DUOX2 n=4	PAX8 n=4	p valor ajustado	n
TSH reevaluación (mU/L)	9 101.9±98 IC [26.6,177.2]	6 176.8±65.4 IC [108.2,245.4]	4 14.8±8.9 IC [0.6,28.9]	4 108.4±112.2 IC [70.1,287]	0.12	23
FT4 reevaluación (ng/dL)	9 0.7±0.4 IC [0.4,1]	6 0.4±0.2 IC [0.2,0.7]	4 1.1±0.1 IC [0.9,1.2]	4 0.8±0.5 IC [0,1.5]	0.13	23

Tabla 40. Valores hormonales en el momento de la reevaluación diagnóstica según el gen afecto en los pacientes con diagnóstico molecular definitivo. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 40** se detallan los valores hormonales en la reevaluación diagnóstica según el gen afecto. Ninguno de los pacientes con variantes en *TSHR* pudo ser reevaluado. Aunque las diferencias no son estadísticamente significativas, podemos ver que el gen que provocó un grado más severo de hipotiroidismo fue *TPO*, con unos valores medios de TSH de 176.8±65.4 mU/L y de FT4 de 0.4±0.2 ng/dL. Por el contrario, el gen con menor alteración de la función tiroidea en la reevaluación fue *DUOX2*, con unos niveles de TSH de 14.8±8.9 mU/L y de FT4 de 1.1±0.1 ng/dL. Los pacientes con variantes en *TG* y *PAX8* presentaron niveles similares de TSH (101.9±98 y 108.4±112.2, respectivamente), siendo los niveles de FT4 algo más bajos en el grupo *TG* (0.7±0.4 ng/dL) respecto al grupo *PAX8* (0.8±0.5 ng/dL).

	Hipotiroidismo permanente	Hipotiroidismo transitorio	Total
TG	8 (88.9)	1 (11.1)	9
TPO	6 (100)	0 (0)	6
DUOX2	3 (75)	1 (25)	4
PAX8	4 (100)	0 (0)	4
Total	21 (91.3)	2 (8.7)	23

Tabla 41. Diagnóstico definitivo en la reevaluación en cada grupo de pacientes según el gen afecto. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje.

La **Tabla 41** detalla el diagnóstico definitivo en la reevaluación de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo según el gen afecto. De estos 23 pacientes reevaluados, un total de 21 (91.3%) fueron diagnosticados de hipotiroidismo permanente en la reevaluación y solo 2 (8.7%) de hipotiroidismo transitorio. El 100% de los pacientes con variantes en *TPO* y *PAX8* se diagnosticaron de hipotiroidismo permanente, así como la mayoría de los pacientes con variantes en *TG* (88.9%) y en *DUOX2* (75%). Los 2 pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo transitorio correspondían a un paciente con variantes en *TG* y otro con variantes en *DUOX2*.

4. FACTORES PREDICTIVOS PARA LA EVOLUCIÓN DEL HIPOTIROIDISMO

En este apartado se analizan las diferencias entre los pacientes reevaluados según si su hipotiroidismo es de carácter permanente (leve o severo) o transitorio, grupo en el que se incluyen los pacientes con HC transitorio (TSH<10 mU/L) y las hipertirotropinemias (TSH 5-10 mUI/L).

Este análisis tiene como objetivo identificar factores que permitan la discriminación temprana entre ambos fenotipos.

4.1. NIVELES HORMONALES Y GAMMAGRAFÍA AL DIAGNÓSTICO

En este apartado se comparan los niveles hormonales (TSH, FT4 y Tg) y la gammagrafía tiroidea en el momento del diagnóstico en ambos grupos de pacientes.

En la **Tabla 42** se detallan los niveles de las 3 hormonas al diagnóstico en los 2 grupos de pacientes.

	Permanente (n=25)	Transitorio (n=16)	p valor ajustado	n
TSH (mU/L)	25 246.1±201.9 295 (46.7,375) IC [162.7,329.4]	16 107.3±134.5 50 (21.7,134.2) IC [35.6,179]	0.11	41
FT4 (ng/dL)	23 0.8±0.5 0.8 (0.4,1.2) IC [0.6,1]	15 1.1±0.5 1.2 (0.8,1.5) IC [0.8,1.4]	0.25	38
Tg (ng/mL)	18 592.4±591.6 300 (157.5,1229.8) IC [298.2,886.5]	13 208.8±188.6 159 (61.9,300) IC [94.8,322.8]	0.25	31

Tabla 42. Valores hormonales al diagnóstico en los pacientes reevaluados con HC de carácter permanente y transitorio. Valores expresados como media±desviación estándar y mediana con rango intercuartílico. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

Los niveles de TSH en el momento del diagnóstico en el grupo de pacientes con HC permanente fueron de 246.1±201.9 mU/L. Los niveles de dicha hormona en el grupo con HC transitorio fueron más bajos, de 107.3±134.5 mU/L, aunque las diferencias entre ambos grupos no son estadísticamente significativas (**Figura 44**).

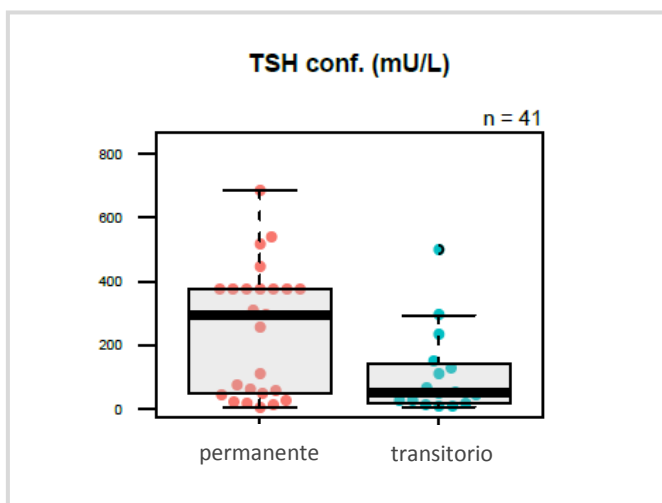


Figura 44. Valores de TSH al diagnóstico (mU/L) en los pacientes con HC permanente y transitorio.

Los niveles de FT4 al diagnóstico en los pacientes con HC permanente fueron de 0.8±0.5 ng/dL y en los pacientes con HC transitorio de 1.1±0.5 ng/dL. Las diferencias entre ambos grupos tampoco son estadísticamente significativas (**Figura 45**).

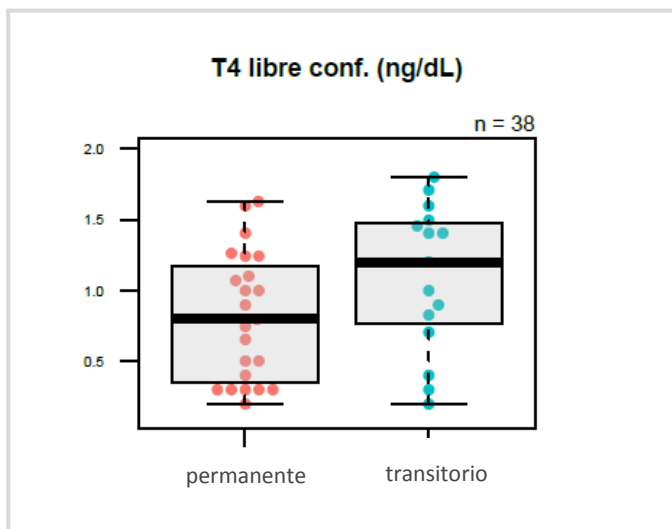


Figura 45. Valores de FT4 al diagnóstico (ng/dL) en los pacientes con HC permanente y transitorio.

Por lo que se refiere a los niveles de Tg al diagnóstico en los pacientes con HC permanente, fueron más elevados (592.4 ± 591.6 ng/mL) que en el grupo con HC transitorio (208.8 ± 188.6), aunque sin diferencias significativas (*Figura 46*).

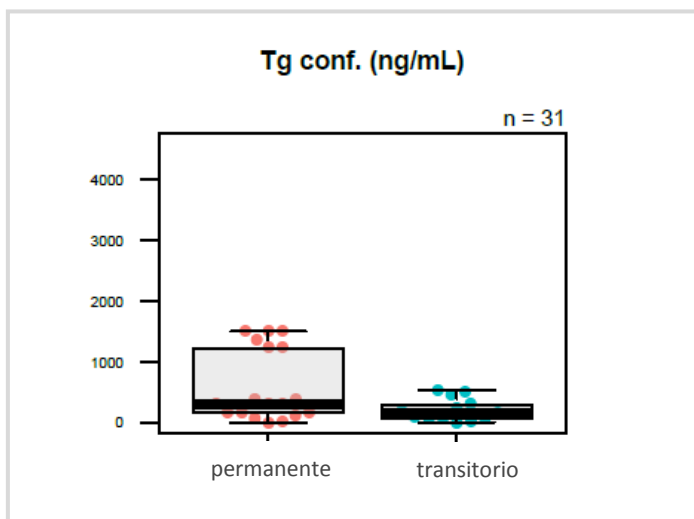


Figura 46. Valores de Tg al diagnóstico (ng/mL) en los pacientes con HC permanente y transitorio.

	Permanente (n=25)	Transitorio (n=16)	p valor ajustado	n
Ausencia total de captación	1 (4.5) IC [0.1,22.8]	2 (13.3) IC [1.7,40.5]	0.44	37
Normocaptante	17 (77.3) IC [54.6,92.2]	8 (53.3) IC [26.6,78.7]		
Hipercaptante	1 (4.5) IC [0.1,22.8]	0 (0) IC [0,21.8]		
Hipocaptante	3 (13.7) IC [2.9,34.9]	5 (33.4) IC [11.8, 61.6]		

Tabla 43. Patrón gammagráfico en el momento del diagnóstico en los pacientes reevaluados con HC de carácter permanente y transitorio. Valores expresados como número total, entre paréntesis porcentaje. IC, intervalo de confianza exacto al 95%; n, número de determinaciones.

En la **Tabla 43** se describen los resultados de la gammagrafía diagnóstica en ambos grupos de pacientes.

Podemos ver que, tanto en un grupo como en el otro, predominaron las glándulas normocaptantes (77.3% en el grupo con HC permanente y 53.3% en el grupo con HC transitorio). No obstante, una proporción nada despreciable de pacientes (33.4%) presentó una glándula hipocaptante en el grupo con HC transitorio, mientras que solo un 13.7% de los pacientes con HC permanente presentó este patrón gammagráfico. Las diferencias encontradas no son estadísticamente significativas.

4.2. DOSIS DE LT4 REQUERIDAS DURANTE SU EVOLUCIÓN

Aquí se describen las dosis de LT4 requeridas en ambos grupos de pacientes en 3 momentos distintos de su evolución: al año, a los 2 años y a los 4 años de vida. Estas dosis se detallan en la **Tabla 44**.

Dosis LT4 (mcg/kg/día)	Permanente (n=25)	Transitorio (n=16)	p valor ajustado	n
1 año de vida	21 4.1±1.1 IC [3.6,4.5]	14 3.1±0.8 IC [2.6,3.6]	0.04	35
2 años de vida	24 3.8±1.2 IC [3.3,4.3]	14 2.3±0.4 IC [2.1,2.6]	<0.001	38
4 años de vida	24 3.3±1 IC [2.9,3.7]	7 1.8±0.4 IC [1.4,2.1]	<0.001	31

Tabla 44. Dosis de LT4 requerida en los pacientes con HC permanente y transitorio al año, 2 años y 4 años de vida. Valores expresados como media±desviación estándar. IC, intervalo de confianza para la media al 95%; n, número de determinaciones.

Podemos ver que las dosis requeridas fueron significativamente superiores en todas las edades en el grupo de pacientes con HC permanente.

Al año de vida (**Figura 47**) la dosis de LT4 requerida en el grupo con HC permanente fue de 4.1±1.1 mcg/kg/día, mientras que en el grupo con HC transitorio fue de 3.1±0.8 mcg/kg/día (p= 0.04).

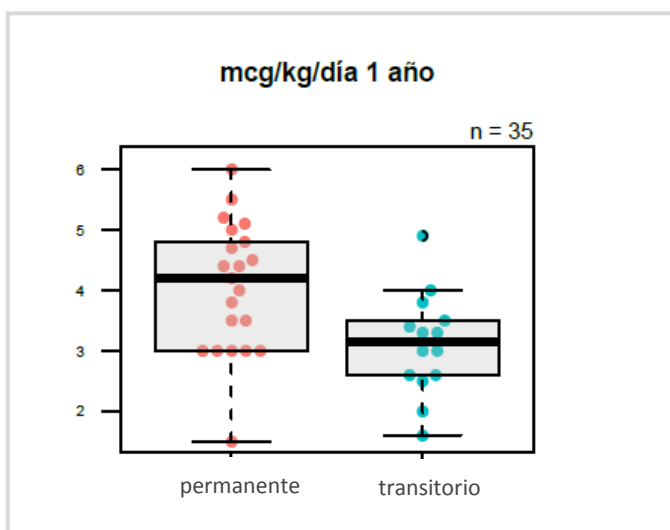


Figura 47. Dosis de LT4 (mcg/kg/día) requerida en los pacientes con HC permanente y transitorio al año de vida.

A los 2 años de vida (**Figura 48**) la dosis de LT4 requerida en el grupo con HC permanente fue de 3.8 ± 1.2 mcg/kg/día, mientras que en el grupo con HC transitorio fue de 2.3 ± 0.4 mcg/kg/día ($p < 0.001$).

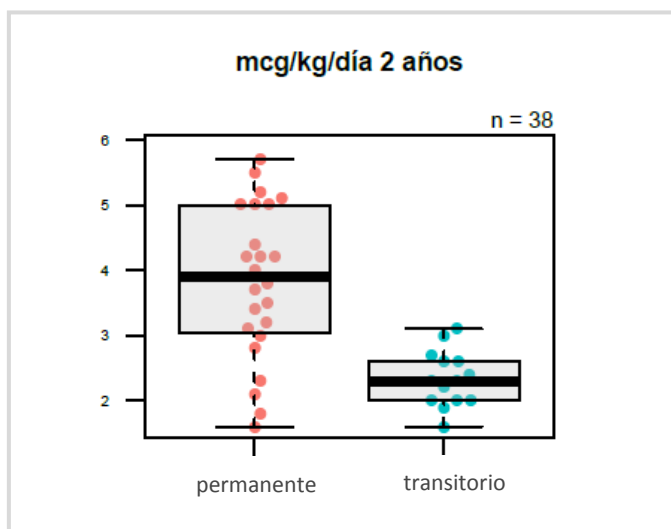


Figura 48. Dosis de LT4 (mcg/kg/día) requerida en los pacientes con HC permanente y transitorio a los 2 años de vida.

A los 4 años de vida (**Figura 49**) la dosis de LT4 que precisó el grupo con HC permanente fue de 3.3 ± 1 mcg/kg/día, mientras que en el grupo con HC transitorio fue de 1.8 ± 0.4 mcg/kg/día ($p < 0.001$).

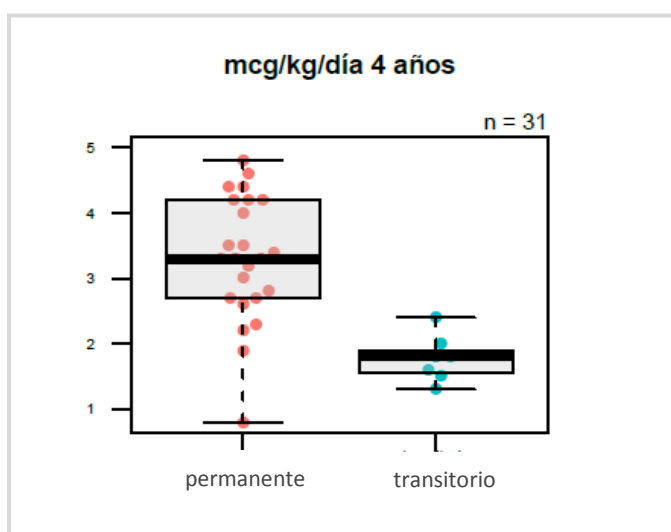


Figura 49. Dosis de LT4 (mcg/kg/día) requerida en los pacientes con HC permanente y transitorio a los 4 años de vida.

4.2.1. DOSIS DE LT4 PREDICTORA DEL FENOTIPO PERMANENTE-TRANSITORIO

En este apartado se analiza individualmente el poder predictivo de las variables con un p. valor inferior a 0.05. Como hemos visto en los apartados anteriores, las únicas variables con este nivel de significancia corresponden a las dosis de LT4.

Se han realizado curvas ROC (*receiver operating characteristic*) para estimar los puntos de corte óptimos para las dosis de LT4 que permitan distinguir entre HC transitorio y HC permanente con un IC del 95%. Los mejores puntos de corte se definen por el mayor Índice de Youden, punto que maximiza la especificidad y sensibilidad [(especificidad + sensibilidad)-1]. Se indica el AUC (*area under the curve*), que se considera adecuado para un test diagnóstico/pronóstico a partir de 70%.

Edad (años)	Dosis (mcg/kg/día)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	AUC (IC 95%)
1	4	52.4	92.3	0.75 (0.59,0.92)
2	3.1	70.8	100	0.86 (0.73,0.98)
4	2.4	83.3	100	0.93 (0.84,1.02)

Tabla 45. Dosis de LT4 al año, a los 2 años y a los 4 años de vida que permite diferenciar entre HC transitorio y permanente según los resultados obtenidos en las curvas ROC. AUC, área debajo la curva.

En la **Tabla 45** se muestran los resultados del área bajo la curva (AUC) con un intervalo de confianza del 95% de las dosis de LT4 al año, a los 2 años, y a los 4 años y el punto de corte óptimo para cada año, con su correspondiente nivel de sensibilidad y especificidad.

En las siguientes figuras (**Figura 50. a, b y c**) encontramos representadas las curvas ROC para las dosis predictoras del tipo de hipotiroidismo para cada una de las edades estudiadas.

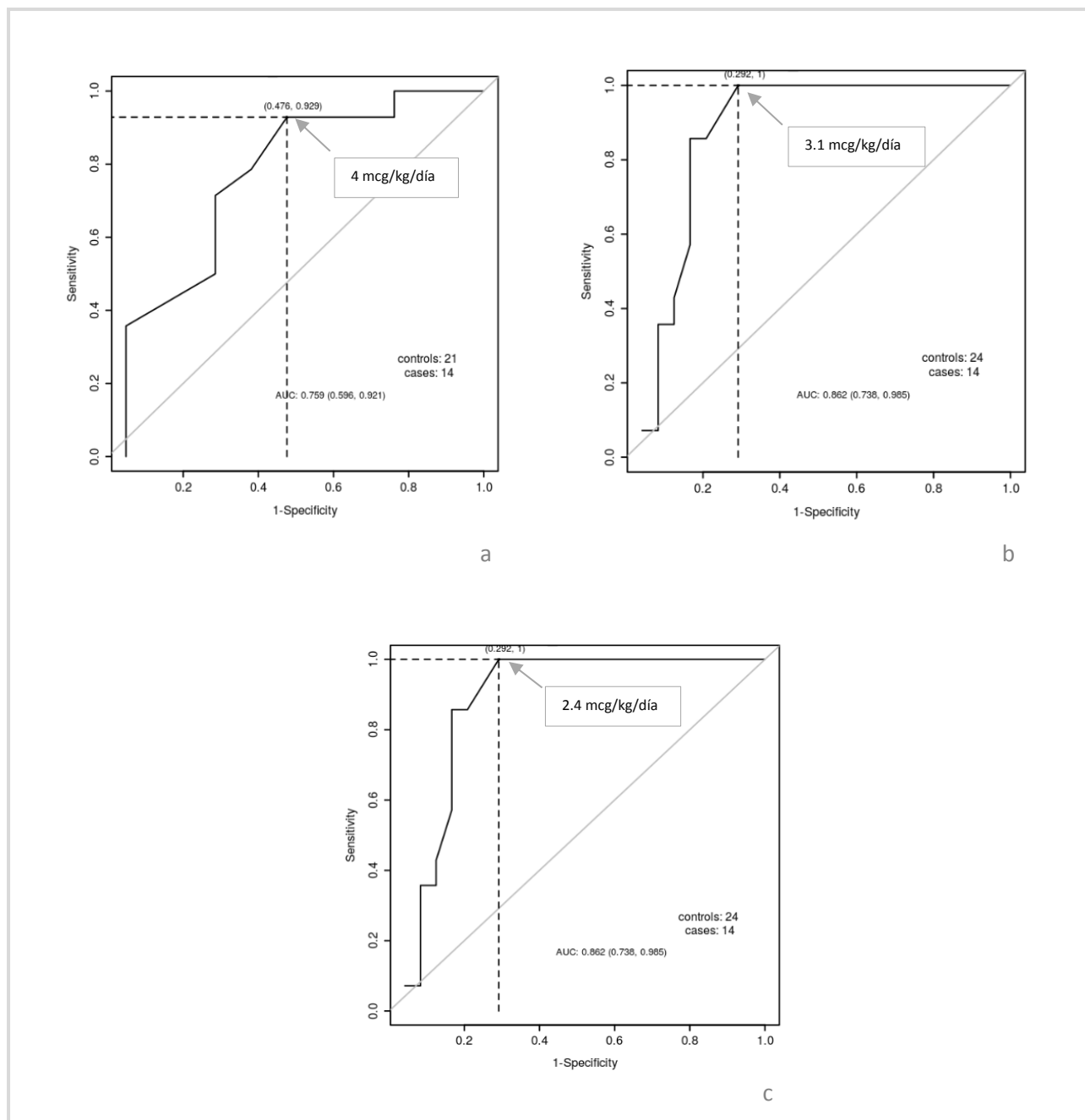


Figura 50. Curvas ROC para los valores de la dosis de LT4 predictor al año (a), 2 años (b) y 4 años (c) de vida.

El AUC para la dosis al año de vida para la predicción del tipo de hipotiroidismo es de 0.75 (IC 95% 0.59,0.92) y el punto de corte óptimo, basado en el máximo índice de Youden, es 4 mcg/kg/día (sensibilidad 52.4%, especificidad 92.3%).

El AUC para la dosis de los 2 años de vida es de 0.86 (IC 95% 0.73,0.98) y el punto de corte óptimo es 3.1 mcg/kg/día (sensibilidad 70.8%, especificidad 100%).

El AUC para la dosis de los 4 años de vida es de 0.93 (IC 95% 0.84, 1.02) y el punto de corte óptimo es 2.4 mcg/kg/día (sensibilidad 83.3%, especificidad 100%).

4.3. PRESENCIA DE VARIANTES GENÉTICAS

En este apartado se analiza la presencia de variantes genéticas en ambos grupos de pacientes.

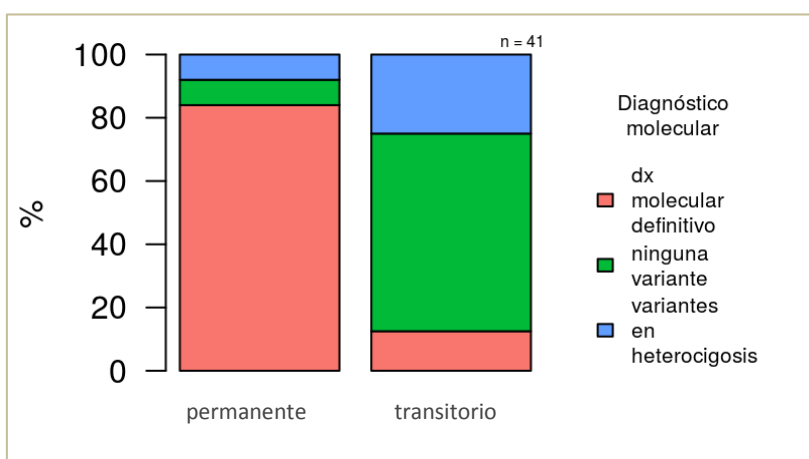


Figura 51. Diagnóstico en la reevaluación y presencia de variantes genéticas.

En la **Figura 51** podemos ver la distribución de los 3 grupos de pacientes según el diagnóstico en la reevaluación.

Vemos que el 84% de los casos que en la reevaluación presentaron un hipotiroidismo permanente correspondían a pacientes con un diagnóstico molecular definitivo, un 8% eran pacientes con variantes en heterocigosis y otro 8% pacientes sin variantes.

Por el contrario, un 62.5% de los casos con hipotiroidismo de carácter transitorio correspondían a pacientes sin variantes, un 25% a pacientes con variantes en heterocigosis y un 12.5% a pacientes con diagnóstico molecular definitivo.

Estas diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0.001$).

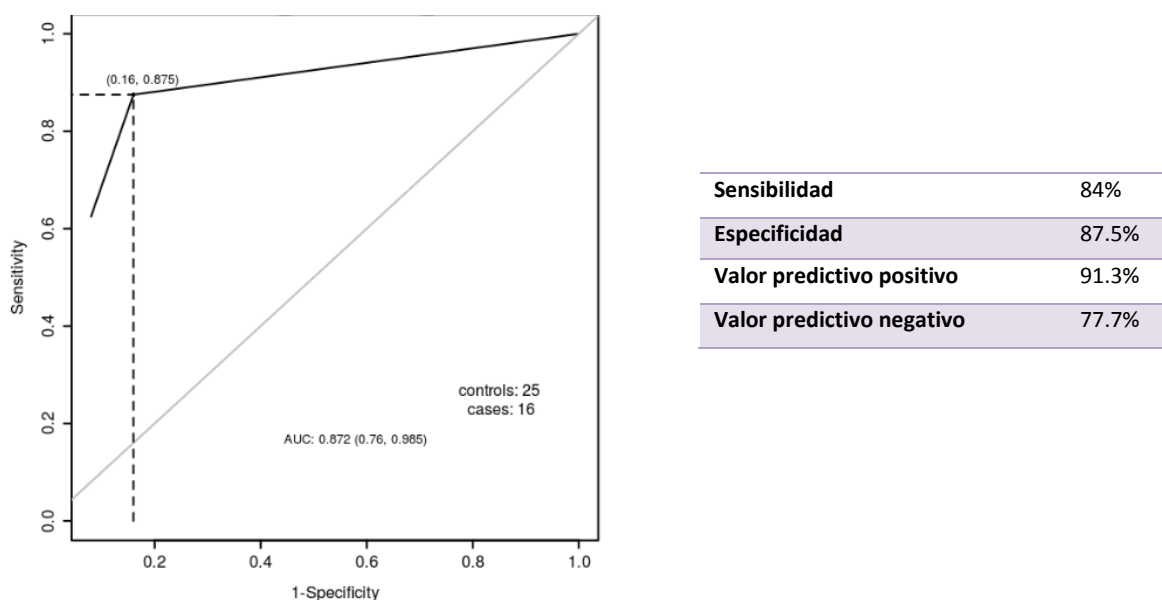


Figura 52. Curvas ROC para la predicción de HC permanente-transitorio según la presencia de variantes genéticas.

Para realizar los cálculos de la capacidad de predicción de la variable “presencia de variantes genéticas”, se ha clasificado a los pacientes con diagnóstico molecular definitivo como hipotiroidismo permanente y a los pacientes con variantes en heterocigosis y sin variantes como hipotiroidismo transitorio.

El AUC para predecir el carácter del HC según la presencia de variantes genéticas es de 0.87 (IC 95% 0.76,0.98), con una sensibilidad y especificidad del 84% y 87.5%, respectivamente (**Figura 52**). Es decir, la probabilidad que un paciente con hipotiroidismo permanente tenga un diagnóstico molecular definitivo es del 84% y que un paciente con hipotiroidismo transitorio sea un caso sin variantes o con variantes en heterocigosis es del 87.5%. Por otro lado, el test nos dice que existe un 91.3% de probabilidad de que un paciente con diagnóstico molecular definitivo sea permanente y un 77.7% de probabilidad de que un paciente sin variantes o variantes en heterocigosis sea transitorio.

5. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE CADA GRUPO DE PACIENTES SEGÚN EL RESULTADO DEL ESTUDIO GENÉTICO

En este bloque se analizan con detalle las características clínicas de todos los pacientes de la cohorte, clasificados según los resultados del estudio genético en los siguientes grupos: pacientes sin variantes, pacientes con variantes en heterocigosis y pacientes con variantes en *TG*, *TPO*, *DUOX2*, *PAX8* y *TSRH* (estos 5 últimos grupos corresponden a los pacientes con diagnóstico molecular definitivo). El fenotipo clínico de los pacientes (HC permanente o transitorio) se define según los resultados en la reevaluación diagnóstica o bien según las dosis de LT4 que precisan durante su evolución, utilizando como referencia las dosis predictoras por edad obtenidas en este estudio (apartado 4.2.1, página 130).

5.1. PACIENTES SIN VARIANTES

En un total de 16 pacientes de nuestra cohorte no se encontraron variantes genéticas en ninguno de los genes analizados en el estudio molecular.

Las características clínicas de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 68.8% de estos pacientes presentaron antecedentes familiares de hipotiroidismo. Un 62.5% presentó antecedentes de hipotiroidismo materno.
- Las medias de los niveles hormonales al diagnóstico fueron las siguientes: TSH 96.4 ± 125 mU/L, FT4 1.1 ± 0.4 ng/dL y Tg 235.5 ± 304.7 ng/mL. Un 81.2% de los pacientes presentaron niveles de FT4 al diagnóstico superiores a 0.8 ng/dL, un 6.3% entre 0.4 y 0.8 ng/dL y un 12.5% menores a 0.4 ng/dL.
- La mayoría de los pacientes presentaron glándulas normocaptantes (50%) e hipocaptantes (42.9%) al diagnóstico. Uno de los pacientes presentó una ausencia total de captación con una ecografía normal.
- Las dosis medias LT4 requeridas fueron de 3.5 ± 0.8 mcg/kg/día al año, de 2.6 ± 0.5 mcg/kg/día a los 2 años y de 2 ± 0.7 mcg/kg/día a los 4 años.
- Un total de 12 pacientes de los 16 pacientes sin variantes genéticas fueron reevaluados, de los cuales un 83.4% presentaron un hipotiroidismo transitorio. Solo 2 pacientes de este grupo (16.6%) presentaron un hipotiroidismo permanente.

PACIENTES REEVALUADOS												
P	HTM	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Gammagrafía/ Ecografía diagnóstica	LT4 1 a	LT4 2 a	LT4 4 a	Diagnóstico reevaluación (TSH;FT4)	Perclorato	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
1	sí	23.9	1.7	61.9	normal	ND	2.3	ND	hipertirotropinemia (5.5; 1)	ND	5	no
2	Sí	500	0.4	ND	ND	3.8	2.7	ND	hipertirotropinemia (6.7; 1.3)	negativo	5	no
3	no	24.6	1.4	159	hipocaptante	2.6	2	1.8	transitorio	déficit parcial	7	no
5	no	6	1.8	70.4	normal	4.9	ND	ND	transitorio	ND	4	no
6	sí	49.7	1.4	194	normal	ND	ND	ND	transitorio	ND	5	no
8	no	23.7	0.9	375	ND	3.5	3	2.8	permanente leve (17.3; 0.8)	déficit parcial	8	2.1
9	no	10.4	1.5	239	hipocaptante	2	2.2	ND	hipertirotropinemia (5.9; 1.1)	ND	5	no
10	sí	111	0.8	1129	normal	4.5	3.5	3.2	permanente leve (14; 1)	negativo	10	1
13	sí	150	0.2	ND	hipocaptante/ hipoplasia	3.3	2	1.8	Transitorio	negativo	6	no
14	sí	129	1	59.6	hipocaptante	3.3	2.6	1.5	Transitorio	déficit parcial	6	no
15	sí	234	0.7	20.7	no capta/ normal	4	3.1	1.6	Transitorio	negativo	6	no
16	no	111	0.9	300	normal	2.5	2.4	1.3	hipertirotropinemia (6.2; 1)	negativo	14	0.6

Tabla 46. Pacientes sin variantes reevaluados. Valores de TSH expresados en mU/L, valores de FT4 expresados en ng/dL, valores de Tg expresados en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. HTM, hipotiroidismo materno; ND, no disponible; conf., confirmatoria. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

PACIENTES NO REEVALUADOS											
P	HTM	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Gammagrafía/ Ecografía diagnóstica	LT4 1a	LT4 2a	LT4 4a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
4	no	74	1.2	245	normal	4	3.7	ND	2	3.7	P
7	sí	64.2	1.4	121	hipocaptante	1.3	1	ND	2	1	T
11	sí	21.8	1	182	normal	3.3	3.3	2.6	4	2.6	P
12	sí	8.5	1.1	39.8	hipocaptante	ND	ND	ND	PS	PS	ND

Tabla 47. Pacientes sin variantes no reevaluados. Valores de TSH expresados en mU/L, valores de FT4 expresados en ng/dL, valores de Tg expresados en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. HTM, hipotiroidismo materno; ND, no disponible; conf., confirmatoria; DP, dosis predictor; P, permanente; T, transitorio. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

Las **Tablas 46 y 47** muestran las características clínicas de cada uno de los pacientes de este grupo.

Los pacientes P7, P14 y P15 se estudiaron con el segundo panel genético de DT, que resultó negativo.

Pacientes reevaluados

Los 2 pacientes con un diagnóstico de HC permanente leve fueron P8 y P10. El P8 destaca porqué presentó un test de perclorato compatible con un déficit parcial de la organificación del yodo. En el P10 destacan unos niveles significativamente elevados de Tg al diagnóstico (1129 ng/mL) con un

test de perclorato negativo. Estos pacientes presentaron unos niveles de FT4 al debut inferiores a la media del grupo y precisaron unas dosis medias de LT4 superiores a la media del grupo a los 2 y a los 4 años. Ambos pacientes requieren tratamiento sustitutivo en la actualidad, aunque a dosis bajas para su edad.

Un total de 4 pacientes (P1, P2, P9 y P16) presentaron cifras de TSH entre 5 y 10 mU/L en la reevaluación (hipertirotropinemia). P1 y P2 presentaban antecedentes de hipotiroidismo materno. Solo uno de estos pacientes (P16) precisa tratamiento sustitutivo en la actualidad, aunque a dosis bajas. Cabe destacar que P2, presentó un grado de afectación severa al diagnóstico, con unos niveles de FT4 de 0.4 ng/dL y de TSH de 500 mU/L.

Los 6 pacientes restantes presentaron un hipotiroidismo transitorio. P3 era un paciente sin antecedentes maternos de hipotiroidismo que presentó un test de perclorato compatible con un déficit parcial de la organificación y P5 era un paciente con una hipertirotropinemia neonatal que se describirá en el apartado 6 (página 149). Los otros 4 pacientes (P6, P13, P14 y P15) presentaban antecedentes maternos de hipotiroidismo. En todos ellos, excepto P6, se halló una glándula tiroidea con disminución de la captación en la gammagrafía diagnóstica: ausencia total de captación en P15 e hipocaptación en P13 y P14. Los casos P14 y P15 corresponden a 2 hermanas gemelas. Debemos remarcar el grado de severidad del hipotiroidismo de P13, con unos niveles de TSH y de FT4 al diagnóstico de 150 mU/L y 0.2 ng/dL, respectivamente. La ecografía tiroidea mostró una glándula hipoplásica en este paciente. Sin embargo, este paciente tiene actualmente 6 años y no requiere tratamiento sustitutivo.

Pacientes no reevaluados

Un total de 4 pacientes no han sido todavía reevaluados. Uno de estos pacientes (P12) perdió el seguimiento. Dos pacientes no han cumplido todavía los 3 años de edad (P4 y P7). P4 precisa unas dosis sugestivas de HC permanente según nuestros resultados en los factores predictores y P7, sugestivas de HC transitorio. P4 presentaba antecedentes maternos de hipotiroidismo y una glándula hipocaptante al diagnóstico. P11 es un paciente que actualmente tiene 4 años y precisa una dosis de LT4 sugestiva de HC permanente.

5.2. PACIENTES CON VARIANTES EN HETEROCIGOSIS

En un total de 9 pacientes de nuestra cohorte se encontraron variantes genéticas en heterocigosis.

Las características clínicas de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 44.4% de estos pacientes presentaban antecedentes familiares de hipotiroidismo.
- Las medias de los niveles hormonales al diagnóstico fueron las siguientes: TSH 42.8 ± 26.7 mU/L, FT4 1.3 ± 0.3 ng/dL y Tg 361.1 ± 348.2 ng/mL.
- El 100% de los pacientes presentaron niveles de FT4 superiores a 0.8 ng/dL en el momento del diagnóstico.
- La mayoría de los pacientes presentaron glándulas normocaptantes (44.5%) e hipocaptantes (33.3%) al diagnóstico. Uno de los pacientes presentó una ausencia total de captación y otro una glándula hipercaptante.
- Las dosis medias de LT4 requeridas fueron de 2.7 ± 0.8 mcg/kg/día al año, de 2.4 ± 0.6 mcg/kg/día a los 2 años y de 2.5 ± 0.4 mcg/kg/día a los 4 años.
- Un total de 6 pacientes fueron reevaluados. De estos, 2 (33.4%), presentaron un hipotiroidismo permanente y 4 (66.6%) un hipotiroidismo transitorio.

PACIENTES REEVALUADOS										
P	Gen	Nucleótido	AA	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Diagnóstico reevaluación (TSH;FT4)	Perclorato	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
34	TG	c.5767C>T	p.(Pro1923Ser)	46.7	1.1	159	permanente leve (16; 1)	negativo	7	2
47	TPO TG	c.1618C>T c.886C>T	p.(Arg540Ter) p.(Arg296Ter)	15	1.2	101	hipertirotropinemia (6.4; 1.4)	negativo	5	no
50	DUOX2	c.514-49G>A	v.intrónica	67.7	ND	ND	hipertirotropinemia (7.5; 1)	negativo	14	0.8
56	DUOX2	c.602dupG	p.(Gln202ThrfsTer99)	50.3	1.5	536	hipertirotropinemia (6.6; 1.2)	negativo	4	1.3
66	TSRH (mismo alelo)	c.770C>T c.767dup	p.(Thr257Ile) p.(Asn256LysfsTer6)	61.6	1.3	379	permanente leve (17.5; 0.9)	negativo	10	1.8
70	DUOXA2	c.738C>G	p.(Tyr246Ter)	42	0.8	516	transitorio	negativo	7	no

Tabla 48. Pacientes con variantes en heterocigosis reevaluados. Valores de TSH expresados en mU/L, valores de FT4 expresados en ng/dL, valores de TG expresados en ng/mL. Dosis LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; conf., confirmatoria; ND, no disponible; PS, pérdida de seguimiento. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg; ver Anexo 1.

PACIENTES NO REEVALUADOS												
P	Gen	Nucleótido	AA	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	LT4 1a	LT4 2ª	LT4 4a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
21	TG	c.6818C>T	p.(Thr2273Met)	5.4	1.8	58.6	PS	PS	PS	PS	PS	ND
28	TG DUOX2	c.416G>A c.3391G>A	p.(Trp139Ter) p.(Ala1131Thr)	83.1	0.9	1073	1.6	PS	PS	PS	PS	T
36	TG	c.3749G>T	p.(Arg1250Leu)	13.5	1.5	65.8	PS	PS	PS	PS	PS	ND

Tabla 49. Pacientes con variantes en heterocigosis no reevaluados. Valores de TSH expresados en mU/L, valores de FT4 expresados en ng/dL, valores de TG expresados en ng/mL. Dosis LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; PS, pérdida de seguimiento; conf., confirmatoria; DP, dosis predictora; P, permanente; T, transitorio. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

Las **Tablas 48 y 49** muestran las características clínicas de cada uno de los pacientes de este grupo.

Pacientes reevaluados

Los 2 pacientes con fenotipo permanente leve (P34 y P66) presentaban variantes en heterocigosis en *TG* y *TSHR*. El paciente P34, que era portador de la variante p.(Pro1923Ser) en *TG*, presentó una gammagrafía normocaptante al diagnóstico, unos niveles de TSH y FT4 de 46.7 mU/L y 1.1 ng/dL, respectivamente, y los niveles de Tg estaban dentro de la normalidad (159 ng/mL). Este paciente tiene actualmente 7 años y precisa LT4 a una dosis de 2 mcg/kg/día. El paciente P66, portador de 2 variantes en heterocigosis en *TSHR*, las 2 en el alelo paterno, presentó un patrón gammagráfico normocaptante y unos niveles de TSH, FT4 y Tg de 61.6 mU/L, 1.3 ng/dL y 379 ng/mL, respectivamente. Este paciente tiene actualmente 10 años y requiere 1.8 mcg/kg/día de LT4 para mantenerse eutiroides.

Los pacientes P50 y P56, que presentaban variantes en heterocigosis en *DUOX2*, una variante intrónica y la variante p. (Gln202ThrfsTer99) respectivamente, se catalogaron de hipertirotropinemias en la reevaluación diagnóstica y ambos requieren tratamiento sustitutivo en la actualidad. El P50 presentó una ausencia total de captación en la gammagrafía diagnóstica, con una ecografía tiroidea normal.

El P47, con variantes en 2 genes distintos (*TG* y *TPO*) y el P70, con una variante en *DUOXA2*, presentaron un hipotiroidismo de carácter transitorio.

El 100% de los pacientes con variantes en heterocigosis presentó un test de descarga con perclorato negativo.

Pacientes no reevaluados

Los 3 pacientes no reevaluados perdieron el seguimiento clínico desde prácticamente el inicio, por lo que no se pueden detallar sus características clínicas. Cabe destacar que P28, que presentaba variantes en 2 genes distintos (*TG* y *DUOX2*), presentó unos niveles de Tg muy superiores al resto, los niveles de TSH más elevados de todo el grupo, y una FT4 en el límite bajo de la normalidad, por lo que podríamos decir que la presencia de 2 variantes genéticas provocó una mayor gravedad en este paciente al diagnóstico. Sin embargo, la dosis de LT4 requerida al año de vida era altamente sugestiva de HC transitorio.

5.3. PACIENTES CON DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEFINITIVO

En este apartado se analizan las características clínicas de los 45 pacientes con diagnóstico molecular definitivo, clasificados según el gen afecto y con la descripción de cada una de las variantes encontradas.

5.3.1. PACIENTES CON VARIANTES EN *TG*

En un total de 18 pacientes de nuestra cohorte se encontraron variantes genéticas en *TG* que han permitido explicar el fenotipo de HC que presentan.

Las características de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 38.9% de estos pacientes presentaron antecedentes familiares de hipotiroidismo.
- Las medias de los niveles hormonales al diagnóstico fueron las siguientes: TSH 320.2 ± 243.1 mU/L, FT4 0.7 ± 0.5 ng/dL y Tg 142.4 ± 336.1 ng/mL.
- Un 35.3% de los pacientes presentaron niveles de FT4 al diagnóstico superiores a 0.8 ng/dL, un 35.3% entre 0.4 y 0.8 ng/dL y un 29.4% inferiores a 0.4 ng/dL.
- La mayoría de los pacientes presentaron glándulas normocaptantes (64.7%) o hipercaptantes (29.4%) al diagnóstico.
- Las dosis medias de LT4 requeridas fueron de 3.8 ± 1 mcg/kg/día al año, de 3.8 ± 1.2 mcg/kg/día a los 2 años y de 3.2 ± 1.1 mcg/kg/día a los 4 años.

- Un total de 9 pacientes fueron reevaluados. De estos, todos excepto uno presentaron un hipotiroidismo permanente (88.9%).
- De los 18 pacientes, 17 presentaron un genotipo heterocigoto compuesto y solo 1 fue homocigoto.
- La variante p.(Arg296Ter), que genera una proteína truncada, fue la variante más frecuente, ya que fue detectada en un total de 10 pacientes.

PACIENTES REEVALUADOS												
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Tg reev.	Diagnóstico reevaluación (TSH;FT4)	Perclorato	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
17	TG	c.886C>T c.5386C>T	p.(Arg296Ter) p.(Gln1796Ter)	HetComp	375	1.6	0.2	0.2	permanente severo (163.3;0.3)	negativo	11	2.2
19	TG IYD	c.493G>T c.5041+46C>T c.349G>A	p.(Glu165Ter) v. intrónica p.(Asp117Asn)	HetComp het	18	1.2	159	15.6	permanente leve (12.3;1)	ND	6	0.7
20	TG DUOX2	c.7851C>G c.8144G>C c.1498T>C	p.(Tyr2617Ter) p.(Cys2715Ser) p.(Phe500Leu)	HetComp het	75	1	ND	0.3	permanente severo (122;0.5)	negativo	13	1.6
22	TG	c.886C>T c.6181G>A c.7753C>T	p.(Arg296Ter) p.(Gly2061Arg) p.(Arg2585Trp)	HetComp	9.2	1.6	455	82.5	hipertirotropinemia (8.2;1.2)	ND	4	1.4
23	TG	c.886C>T c.4588C>T	p.(Arg296Ter) p.(Arg1530Ter)	HetComp	375	1	ND	0.2	permanente severo (323;0.1)	negativo	11	2.5
29	TG	c.5184C>A c.6263-9877A>G	p.(Cys1728Ter) v.intrónica	HetComp	22	1.6	22.6	42.7	permanente leve (51.1;0.9)	ND	5	2.9
31	TG	c.886C>T c.6262+1delG	p.(Arg296Ter) v.intrónica	HetComp	518	0.2	ND	1.7	permanente severo (62;0.7)	negativo	18	2.5
33	TG	c.7813C>T c.3804C>T	p.(Arg2605Ter) p.(Ser1268=)	HetComp	540	0.5	1230	58	permanente leve (53.5;0.9)	negativo	6	2
35	TG	c.886C>T c.3790T>G	p.(Arg296Ter) p.(Cys1264Gly)	HetComp	309	0.3	73.5	4.3	permanente severo (122;0.4)	negativo	15	2.3

Tabla 50. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen TG reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; PS, pérdida de seguimiento; conf., confirmatoria; reev., reevaluación; het, heterocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

PACIENTES NO REEVALUADOS													
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	LT4 1 a	LT4 2 a	LT4 4 a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
18	TG	c.886C>T c.1143delC	p.(Arg296Ter) p.(Tyr382ThrfsTer20)	HetComp	352.6	0.4	0.2	4.2	ND	3.8	4	3.8	P
24	TG	c.1351C>T c.3842G>A	p.(Arg451Ter) p.(Cys1281Tyr)	HetComp	75	0.4	35.9	3.5	3	2.4	10	2.4	P
25	TG	c.1351C>T c.3842G>A	p.(Arg451Ter) p.(Cys1281Tyr)	HetComp	608	0.3	ND	3.2	3.2	2.3	14	1.4	P
26	TG	c.886C>T c.7240G>A	p.(Arg296Ter) p.(Gly2414Arg)	HetComp	150	0.5	0.2	3.7	4	3.8	5	3.8	P
27	TG	c.886C>T c.7240G>A	p.(Arg296Ter) p.(Gly2414Arg)	HetComp	486	0.4	2.6	2.6	ND	3.7	7	3.2	P
30	TG	c.5386C>T	p.(Gln1796Ter)	hom	550	0.5	0.2	4	ND	3.3	6	3.2	P
32	TG	c.886C>T c.5173delC	p.(Arg296Ter) p.(Leu1725PhefsTer28)	HetComp	91.3	0.7	13.6	3.6	3	2.1	7	2	T
37	TG	c.886C>T c.1333C>T	p.(Arg296Ter) p.(Arg445Ter)	HetComp	375	0.3	0.2	4	5	4.5	18	3.6	P
38	TG	c.5976-1G>A c.7228G>C	v.intrónica p.(Ala2410Pro)	HetComp	835	ND	0.2	4.5	4.6	3	4	3	P

Tabla 51. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *TG* no reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; PS, pérdida de seguimiento; conf., confirmatoria; DP, dosis predictora; P, permanente; T, transitorio; hom, homocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

Las **Tablas 50 y 51** muestran las características clínicas y las variantes genéticas de cada uno de los pacientes de este grupo.

En referencia a los niveles séricos de Tg de todo el grupo, si tomamos como referencia los valores publicados en un estudio con población española¹⁷⁶, todos los pacientes (83.4%) excepto tres (P22, P29 y P33) presentaron unos niveles de Tg bajos al diagnóstico y/o en la reevaluación.

Pacientes reevaluados

Del total de pacientes reevaluados (n=9), 5 presentaron un hipotiroidismo permanente severo, 3 un hipotiroidismo permanente leve y 1 hipertirotrópinemia.

Se realizó un test de descarga con perclorato en 6 pacientes, que resultó en todos ellos negativo.

En referencia a los pacientes con hipotiroidismo severo, en 4 de ellos (P17, P23, P31 y P35) se detectó la presencia de la variante p.(Arg296Ter). Todos estos pacientes presentaban niveles bajos de Tg y precisaban dosis elevadas de LT4 en la actualidad. El otro paciente con fenotipo severo fue P20, que además de presentar 2 variantes en *TG*, era portador también de una variante en *DUOX2*, posiblemente agravante de su hipotiroidismo. Los niveles de Tg en este paciente eran bajos, pero las dosis de LT4 requeridas en la actualidad no son tan altas como en los anteriores.

Los pacientes con hipotiroidismo permanente leve (P19, P29 y P33) requieren todos tratamiento sustitutivo en la actualidad, aunque P19 y P33 a dosis bajas para su edad. P29 y P33 presentaban unos niveles de Tg dentro de la normalidad mientras que P19 presentaba niveles de Tg ligeramente disminuidos. En P19 se detectó, además de las variantes en *TG*, una variante en el gen *IYD*.

El P22, diagnosticado de hipotiroidismo transitorio (hipertirotropinemia), era portador de 3 variantes distintas en *TG*, una de ellas p.(Arg296Ter), y requiere dosis bajas de LT4 en la actualidad.

Pacientes no reevaluados

La variante p.(Arg296Ter) se detectó en 5 de los pacientes de este grupo (P18, P26, P27, P32 y P37). En todos ellos los niveles de Tg fueron bajos. En referencia a la predicción del tipo de hipotiroidismo, si nos basamos en los resultados de este trabajo, las dosis de LT4 requeridas a los 4 años de edad, fueron sugestivas de hipotiroidismo permanente en todos ellos excepto en P32. Este paciente, que es el que presentaba el fenotipo clínico menos severo al diagnóstico, tiene actualmente 7 años y precisa dosis bajas de LT4 (2 mcg/kg/día). P26 y P27 son dos hermanos con un fenotipo clínico muy similar.

P24 y P25 son dos hermanos con las variantes p.(Arg451Ter) y p.(Cys1281Tyr) que tienen actualmente 10 y 14 años y requieren dosis de LT4 de 2.4 y 1.4 mcg/kg/día, respectivamente. P30, que es portador en homocigosis de la variante p.(Gln1796Ter) y P38, con p.(Ala2410Pro) y una variante intrónica, precisan también dosis altamente sugestivas de hipotiroidismo permanente.

En conclusión, según las dosis de LT4 requeridas, todos los pacientes no reevaluados excepto P32, presentarían un hipotiroidismo permanente.

5.3.2. PACIENTES CON VARIANTES EN *TPO*

En un total de 10 pacientes con diagnóstico molecular definitivo se encontraron variantes genéticas en *TPO*.

Las características de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 20% de estos pacientes presentaron antecedentes familiares de hipotiroidismo.
- Las medias de los niveles hormonales al diagnóstico fueron las siguientes: TSH 415.3 ± 196.9 mU/L, FT4 0.4 ± 0.2 ng/dL y Tg 1457.2 ± 1014.1 ng/mL.

- Un 33.3% de los pacientes presentaron niveles de FT4 al diagnóstico entre 0.4 y 0.8 ng/dL y un 66.7% inferiores a 0.4 ng/dL.
- Al diagnóstico, un 75% de los pacientes presentaron glándulas normocaptantes y un 25% hipercaptantes.
- Las dosis medias de LT4 requeridas fueron de 4.7 ± 1 mcg/kg/día al año, de 4.5 ± 0.7 mcg/kg/día a los 2 años y de 4.2 ± 0.4 mcg/kg/día a los 4 años.
- El 100% de los pacientes reevaluados, un total de 6, presentaron un hipotiroidismo de carácter permanente.
- De los 10 pacientes, 3 presentaron un genotipo homocigoto y el resto, heterocigoto compuesto.

PACIENTES REEVALUADOS												
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Tg reev.	Diagnóstico reevaluación (TSH;FT4)	Perclorato	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
40	TPO	c.2512T>A	p.(Cys838Ser)	hom	686	0.5	300	ND	permanente severo (222;0.3)	déficit total	14	2
41	TPO	c.478A>G c.1312C>T	p.(Asn160Asp) p.(Arg438Cys)	HetComp	57.8	0.8	ND	89.6	permanente leve (149;0.9)	déficit parcial	7	3.4
43	TPO	c.387delC c.2422delT	p.(Asn129LysfsTer80) p.(Cys808AlafsTer24)	HetComp	375	ND	ND	776	permanente severo (103;0.2)	déficit parcial	12	2.7
44	TPO	c.1450G>A c.1522T>A	p.(Val484Met) p.(Phe508Ile)	HetComp	445	0.3	300	673	permanente severo (278;0.5)	déficit parcial	9	2.7
48	TPO	c.2422T>C c.2387-67G>A	p.(Cys808Arg) v.intrónica	HetComp	375	0.3	1500	1500	permanente severo (124;0.3)	déficit total	11	3
49	TPO	c.2422T>C c.2387-67G>A	p.(Cys808Arg) v.intrónica	HetComp	375	0.3	1500	676	permanente severo (185;0.3)	déficit total	11	3

Tabla 52. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *TPO* reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; PS, pérdida de seguimiento; conf., confirmatoria; reev., reevaluación; hom, homocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

PACIENTES NO REEVALUADOS													
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	LT4 1 a	LT4 2 a	LT4 4 a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
39	TPO	c.2578G>A c.2619-1G>C	p.(Gly860Arg) v.intrónica	HetComp	266.7	0.2	1066	6	4.2	ND	3	4	P
42	TPO PAX8	c.1943G>A c.1334C>T	p.(Arg648Gln) p.(Thr445Met)	hom het	750	0.2	3247	4.1	4.5	3.8	4	3.8	P
45	TPO	c.1993C>T	p.(Arg665Trp)	hom	348.6	0.1	1234	5	ND	4.7	PS	PS	P
46	TPO	c.1184_1187dupGCCG c.1978C>G	p.(Ala397ProfsTer76) p.(Gln660Glu)	HetComp	474	0.6	2511	3.4	3.6	ND	3	3.6	P

Tabla 53. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *TPO* no reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; PS, pérdida de seguimiento; conf., confirmatoria; DP, dosis predictor; P, permanente; T, transitorio; hom, homocigosis; het, heterocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En las **Tablas 52 y 53** se detallan las características clínicas y las variantes genéticas de cada uno de los pacientes de este grupo.

Pacientes reevaluados

Todos los pacientes reevaluados presentaron un hipotiroidismo permanente, 5 de carácter severo y 1 de carácter leve y, en todos ellos, el test de descarga con perclorato resultó compatible con un déficit de la organificación del yodo. En la mitad de los pacientes, este déficit de la organificación fue total (P40, P48 y P49). El P40, portador en homocigosis de la variante p.(Cys838Ser), presentó un fenotipo severo. El P48 y el P49, 2 gemelos portadores de una variante intrónica y una variante *missense* en heterocigosis compuesta, presentaban ambos un fenotipo grave. Los 3 pacientes con déficit parcial de la organificación (P41, P43 y P44) presentaban un genotipo en heterocigosis compuesta. Cabe destacar, que los pacientes con fenotipo severo, presentaron cifras de Tg más elevadas en la reevaluación que el paciente con fenotipo leve. Todos los pacientes precisan tratamiento sustitutivo en la actualidad.

Pacientes no reevaluados

De acuerdo con los resultados de nuestro trabajo, todos los pacientes con variantes genéticas en *TPO* no reevaluados precisaron una dosis de LT4 sugestiva de hipotiroidismo de carácter permanente. En el P42, se detectó una variante en heterocigosis en otro gen (*PAX8*). Este paciente, con variantes en dos genes distintos asociados a HC, presentó unos niveles de Tg al diagnóstico notablemente más elevados que el resto y unos niveles de TSH al diagnóstico también ligeramente por encima del resto del grupo, por lo que es probable que la presencia de una variante en otro gen provocara un fenotipo clínico más severo en este paciente.

5.3.3. PACIENTES CON VARIANTES EN *DUOX2*

En un total de 9 pacientes de nuestra cohorte se encontraron variantes genéticas en *DUOX2* que justifican su fenotipo clínico.

Las características de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 22.2% de estos pacientes presentaron antecedentes familiares de hipotiroidismo.
- Los valores medios hormonales al diagnóstico fueron los siguientes: TSH 181.9 ± 146 mU/L, FT4 0.8 ± 0.5 ng/dL y Tg 1371.8 ± 1402 ng/mL.

- Un 33.3% de los pacientes presentaron niveles de FT4 al diagnóstico superiores a 0.8 ng/dL, un 33.3% entre 0.4 y 0.8 ng/dL y un 33.3% inferiores a 0.4 ng/dL.
- Al diagnóstico, un 55.6% de los pacientes presentaron glándulas hipercaptantes y un 44.4% normocaptantes.
- Las dosis medias de LT4 requeridas fueron de 3.3 ± 0.8 mcg/kg/día al año, de 3.2 ± 1 mcg/kg/día a los 2 años y de 2.8 ± 0.6 mcg/kg/día a los 4 años.
- El 75% de los pacientes reevaluados presentaron un hipotiroidismo de carácter permanente y el 25% restante, transitorio.
- La variante más frecuente en este grupo fue p.(Phe966SerfsTer29), que se detectó en 5 de los 9 pacientes.
- De los 9 pacientes, 3 presentaron un genotipo homocigoto y 6 heterocigoto compuesto.

PACIENTES REEVALUADOS												
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Tg reev.	Diagnóstico reevaluación (TSH;FT4)	Perclorato	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
51	DUOX2	c.2895_2898del c.3901C>T	p.(Phe966SerfsTer29) (p.Gln1301Ter)	HetComp	295	0.4	ND	543	permanente leve (22;1)	déficit parcial	11	2.4
53	DUOX2	c.2997delT	p.(Phe999LeufsTer26)	hom	527	0.7	1357	157	permanente leve (22;1.1)	déficit parcial	9	2.4
58	DUOX2	c.4405G>A c.554A>G	p.(Glu1469Lys) p.(Tyr185Cys)	HetComp	375	0.3	1500	ND	permanente leve (11.2;1.1)	negativo	13	1
60	DUOX2	c.1060C>T c.2895_2898del	p.(Arg354Trp) p.(Phe966SerfsTer29)	HetComp	294	0.3	1.2	51	transitorio	negativo	9	no

Tabla 54. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *DUOX2* reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; conf., confirmatoria; reev., reevaluación; hom, homocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

PACIENTES NO REEVALUADOS													
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	LT4 1 a	LT4 2 a	LT4 4 a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
52	DUOX2	c.2895_2898del	p.(Phe966SerfsTer29)	hom	17.1	1.3	1120	2.4	1.8	1.8	4	1.8	T
54	DUOX2 TG	c.2654G>T c.2654G>A c.4270T>G	p.(Arg885Leu) p.(Arg885Gln) p.(Phe1424Val)	HetComp het	23.7	1.2	550	2.5	2.6	1.7	4	1.7	T
55	DUOX2	c.1588A>T c.3329G>A	p.(Lys530Ter) p.(Arg1110Gln)	HetComp	35.4	1.5	488	3.5	3.7	3	4	3	P
57	DUOX2	c.2444T>C c.2895_2898del	p.(Leu815Pro) p.(Phe966SerfsTer29)	HetComp	50.9	0.7	1370	3.3	4.5	ND	3	4.6	P
59	DUOX2	c.2895_2898del	p.(Phe966SerfsTer29)	hom	289	0.5	4588	3.5	3.4	ND	2	3.4	P

Tabla 55. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *DUOX2* no reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; conf., confirmatoria; DP, dosis predictor; P, permanente; T, transitorio; het, heterocigosis; hom, homocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En las **Tablas 54 y 55** se detallan las características clínicas y las variantes genéticas de cada uno de los pacientes de este grupo.

Pacientes reevaluados

Como ya se ha mencionado, 3 de los 4 pacientes reevaluados presentó un HC de carácter permanente. Dos de éstos (P51 y P53) presentaron un déficit parcial en la organificación del yodo. Estos pacientes tienen actualmente entre 9 y 13 años y, a pesar del grado leve de hipotiroidismo, todos siguen precisando tratamiento sustitutivo. Debemos remarcar que el paciente con HC transitorio (P60), presentó unos niveles de Tg muy bajos al diagnóstico y también en la reevaluación, comparado con los pacientes con HC permanente.

Pacientes no reevaluados

De los 5 pacientes no reevaluados, el P52 y el P54 han precisado, según nuestros resultados, unas dosis de LT4 sugestivas de HC transitorio desde el primer año de vida. Además, el grado de severidad del hipotiroidismo al diagnóstico en ambos fue leve comparado con los pacientes con HC permanente y variantes en este gen. P54 presentaba un HC de carácter digénico, ya que era además portador de una variante en *TG*, que no parece agravar su fenotipo. Por lo contrario, P55, P57 y P59, precisaron unas dosis de LT4 sugestivas de HC permanente. En todos ellos, excepto en P55, el hipotiroidismo al diagnóstico fue severo. P52 y P59, que presentaban la misma mutación en homocigosis, presentaron un fenotipo clínico diferente entre ellos pese a presentar el mismo patrón genético.

5.3.4. PACIENTES CON VARIANTES EN *PAX8*

En un total de 5 pacientes con diagnóstico molecular definitivo se encontraron variantes genéticas en *PAX8*.

Las características de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 40% de estos pacientes presentaban antecedentes familiares de hipotiroidismo.
- Los valores medios hormonales al diagnóstico fueron los siguientes: TSH 162.2 ± 194.8 mU/L, FT4 1 ± 0.5 ng/dL y Tg 192.7 ± 94.7 ng/mL.
- Un 75% de los pacientes presentaron niveles de FT4 al diagnóstico superiores a 0.8 ng/dL y un 25% inferiores a 0.4 ng/dL.

- Al diagnóstico, un 50% de los pacientes presentaron glándulas hipocaptantes, un 25% normocaptantes y un paciente presentó ausencia total de captación.
- Las dosis medias de LT4 requeridas fueron de 3.7 ± 0.9 mcg/kg/día al año, de 3.2 ± 1.3 mcg/kg/día a los 2 años y de 3 ± 0.9 mcg/kg/día a los 4 años.
- El 100% de los pacientes reevaluados presentó un hipotiroidismo de carácter permanente.
- Todos los pacientes presentaron un genotipo en heterocigosis.

PACIENTES REEVALUADOS												
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	Tg reev.	Diagnóstico reevaluación (TSH;FT4)	Perclorato	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
61	PAX8	c.117C>A	p.(Ser59Arg)	het	375	ND	300	300	permanente severo (175.6;0.7)	déficit parcial	9	2
62	PAX8	c.398G>A	p.(Arg133Gln)	het	13.6	1.2	121	41.7	permanente leve (11.2;1.2)	negativo	5	1.4
63	PAX8	c.196_198del	p.(Tyr66del)	het	42	1.1	ND	48.2	permanente severo (231.5;0.2)	negativo	15	2
65	PAX8	c.397C>T	p.(Arg133Trp)	het	5.3	1.4	157	46.8	permanente leve (15.4;1)	déficit parcial	6	2.6

Tabla 56. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *PAX8* reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; conf., confirmatoria; reev., reevaluación; het, heterocigosis. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

PACIENTES NO REEVALUADOS													
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	LT4 1 a	LT4 2 a	LT4 4 a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
64	PAX8	c.398G>A	p.(Arg133Gln)	het	375	0.3	ND	3	3.2	3.4	12	2.4	P

Tabla 57. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *PAX8* no reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; conf., confirmatoria; DP, dosis predictora; P, permanente; T, transitorio; het, heterocigosis. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

En las **Tablas 56 y 57** se detallan las características clínicas y las variantes genéticas de cada uno de los pacientes de este grupo.

Pacientes reevaluados

Todos los pacientes presentaron un HC de carácter permanente, 2 de ellos leve y los otros 2 severo. Respecto al test de perclorato, en 2 de ellos el resultado fue compatible con un déficit parcial de la organificación y, en los otros 2, fue negativo. No se observó correlación entre el resultado de este test y la gravedad del hipotiroidismo.

Pacientes no reevaluados

El único paciente no reevaluado presentó un grado severo de hipotiroidismo al diagnóstico, así como unas dosis de LT4 sugestivas de HC permanente.

5.3.5. PACIENTES CON VARIANTES EN *TSHR*

En un total de 3 pacientes de nuestra cohorte se encontraron variantes genéticas en *TSHR* que justifican su fenotipo clínico.

Las características de este grupo de pacientes son las siguientes:

- Un 33.3% de estos pacientes presentaban antecedentes familiares de hipotiroidismo.
- Los valores medios hormonales al diagnóstico fueron los siguientes: TSH 51 ± 42.9 mU/L, FT4 1.3 ± 0.3 ng/dL y Tg 38.9 ± 21 ng/mL.
- Al diagnóstico, el 100% de los pacientes presentaron niveles de FT4 superiores a 0.8 ng/dL.
- Todos los pacientes presentaron glándulas hipocaptantes en el momento del diagnóstico.
- Las dosis medias de LT4 requeridas fueron de 4.2 ± 1.4 mcg/kg/día al año, de 2.8 ± 0.8 mcg/kg/día a los 2 años y de 3.8 ± 1 mcg/kg/día a los 4 años.
- Dos de los pacientes presentaron un genotipo homocigoto y uno heterocigoto compuesto.

PACIENTES NO REEVALUADOS													
P	Gen	Nucleótido	AA	Genotipo	TSH conf.	FT4 conf.	Tg conf.	LT4 1a	LT4 2a	LT4 4a	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)	Fenotipo según DP
67	<i>TSRH</i>	c.484C>G	p.(Pro162Ala)	hom	33.2	1.1	24	4.6	3.5	4.4	6	3.8	P
68	<i>TSRH</i>	c.100G>A c.1349G>A	p.(Glu34Lys) p.(Arg450His)	HetComp	19.9	1.5	53.7	2.7	3.1	2.7	5	2.3	P
69	<i>TSRH</i>	c.1657G>A	p.(Ala553Thr)	hom	100	ND	ND	5.4	1.9	4.3	PS	PS	P

Tabla 58. Pacientes con diagnóstico molecular definitivo por variantes en el gen *TSHR* no reevaluados. AA, aminoácido. TSH expresada en mU/L, FT4 expresada en ng/dL, Tg expresada en ng/mL, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. AA, aminoácido; ND, no disponible; DP, dosis predictor; P, permanente; T, transitorio; conf., confirmatoria; reev., reevaluación; hom, homocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

Pacientes no reevaluados

Ninguno de estos pacientes fue reevaluado. Es probable que, por las dosis que precisaban a los 4 años de edad, todos presenten un HC de carácter permanente (**Tabla 58**).

6. CASOS FALSOS POSITIVOS (HIPERTIROTROPINEMIAS NEONATALES)

En nuestro estudio se incluyeron 5 pacientes falsos positivos, es decir, pacientes que presentaron una cifra de TSH superior a 10 mU/L en el cribado, pero inferior a 10 mU/L en la confirmación diagnóstica. Todos estos pacientes presentaron cifras de TSH confirmatorias de entre 5 y 10 mU/L y niveles normales de FT4, por lo que se definen como casos de hipertirotropinemia neonatal.

En la **Tabla 59** se describen de forma resumida las características clínicas de estos pacientes.

	TSH cribado	TSH conf.	Gammagrafía diagnóstico	Variantes genéticas	Reevaluación diagnóstica	Edad actual (años)	LT4 actual (dosis)
P5	12	6	normocaptante	no	transitorio	4	no
P12	30.6	8.5	hipocaptante	no	PS	PS	PS
P21	21.4	5.4	hipocaptante	p.(Thr2273Met) (het, TG)	PS	PS	PS
P22	19	9.2	normocaptante	p.(Arg296Ter) p.(Gly2061Arg) p.(Arg2585Trp) (HetComp, TG)	hipertirotropinemia	4	1.4
P65	20	5.3	hipocaptante	p.(Arg133Trp) (het, PAX8)	permanente leve	6	2.6

Tabla 59. Pacientes falsos positivos. Valores de TSH expresados en mU/L, dosis de LT4 expresada en mcg/kg/día. PS, pérdida de seguimiento; het, heterocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta.

En 2 de estos casos no hemos podido valorar su evolución porque son pacientes que perdieron el seguimiento clínico. Estos 2 pacientes presentaban glándulas hipocaptantes al diagnóstico y los anticuerpos TgAb y TPOAb eran negativos. Uno de ellos era un paciente sin variantes genéticas y una TSH confirmatoria de 8.5 mU/L (P12). La madre y el hermano de este paciente presentaban alteración de la función tiroidea: la madre hipotiroidismo establecido y el hermano un HC (al debut TSH 13.5 mU/L, FT4 1.5 ng/dL) del que desconocemos su evolución por pérdida de seguimiento, siendo ambos portadores de la variante p.(Arg1250Leu) en TG. El otro caso se trata de un paciente con una variante en heterocigosis en TG, p.(Thr2273Met), y una TSH confirmatoria de 5.4 mU/L (P21).

Los otros 3 pacientes sí que fueron reevaluados. En uno de ellos se confirmó un HC transitorio (P5). Este paciente presentaba una TSH confirmatoria de 6 mU/L, una gammagrafía normocaptante y un estudio genético negativo. En el P22, que presentó una TSH confirmatoria de 9.2 mU/L, persistía un estado de hipertirotropinemia (TSH 8.1 mU/L) en la reevaluación. Este paciente era portador de 3 variantes en heterocigosis compuesta en el gen *TG* y actualmente, a la edad de 4 años, requiere unas dosis de LT4 sugestivas de HC transitorio (1.4 mcg/kg/día). El otro paciente se diagnosticó de HC permanente leve (P65). Se trata de un paciente con una TSH confirmatoria de 5.3 mU/L, un test de perclorato compatible con un déficit parcial de la organificación del yodo y una variante en heterocigosis en *PAX8*, p.(Arg133Trp). Este paciente tiene actualmente 6 años y requiere una dosis de LT4 de 2.6 mcg/kg/día. La madre de este paciente, también portadora de esta variante, presenta un hipotiroidismo subclínico.

En la **Tabla 60** se representa, de forma resumida, el fenotipo y el genotipo de todos los pacientes con variantes genéticas, así como los resultados en el estudio de cosegregación familiar.

P	TSH conf	FT4 conf	Tg conf	Gammagrafía/Eco	F	Perclorato	Gen	Nucleótido	AA	Estado HGMD	Patogenicidad ACMG	Zigosidad	Cosegregación
17	375	1.6	0.2	normocaptante	PS	negativo	TG	c.886C>T c.5386C>T	p.(Arg296Ter) p.(Gln1796Ter)	conocida conocida	P P	HetComp	Pa Ma
18	352.6	0.4	0.2	hipercaptante	ND	ND	TG	c.886C>T c.1143delC	p.(Arg296Ter) p.(Tyr382ThrfsTer20)	conocida conocida	P P	HetComp	Ma Pa
19	18	1.2	159	hipocaptante	PL	ND	TG IYD	c.493G>T c.5041+46C>T c.349G>A	p.(Glu165Ter) v. intrónica p.(Asp117Asn)	nueva nueva nueva	P VUS VUS	Het Comp het	Ma Ma Pa
20	75	1	ND	normocaptante	PS	negativo	TG DUOX2	c.7851C>G c.8144G>C c.1498T>C	p.(Tyr2617Ter) p.(Cys2715Ser) p.(Phe500Leu)	nueva nueva nueva	likelyP VUS VUS	HetComp het	Ma Pa Pa
21	5.4	1.8	58.6	hipocaptante	ND	ND	TG	c.6818C>T	p.(Thr2273Met)	nueva	likelyB	het	ND
22	9.2	1.6	455	normocaptante	T	ND	TG	c.886C>T c.6181G>A c.7753C>T	p.(Arg296Ter) p.(Gly2061Arg) p.(Arg2585Trp)	conocida nueva conocida	P likelyB likelyB	HetComp	Pa Ma Pa
23	375	1	ND	normocaptante	PS	negativo	TG	c.886C>T c.4588C>T	p.(Arg296Ter) p.(Arg1530Ter)	conocida conocida	P P	HetComp	ND
24	75	0.4	35.9	normocaptante	ND	ND	TG	c.1351C>T c.3842G>A	p.(Arg451Ter) p.(Cys1281Tyr)	conocida conocida	P VUS	HetComp	ND
25	608	0.3	ND	hipercaptante	ND	ND	TG	c.1351C>T c.3842G>A	p.(Arg451Ter) p.(Cys1281Tyr)	conocida conocida	P VUS	HetComp	ND
26	150	0.5	0.2	hipercaptante	ND	ND	TG	c.886C>T c.7240G>A	p.(Arg296Ter) p.(Gly2414Arg)	conocida nueva	P VUS	HetComp	Ma Pa
27	486	0.4	2.6	normocaptante	ND	ND	TG	c.886C>T c.7240G>A	p.(Arg296Ter) p.(Gly2414Arg)	conocida nueva	P VUS	HetComp	Ma Pa
28	83.1	0.9	1073	hipercaptante	ND	ND	TG DUOX2	c.416G>A c.3391G>A	p.(Trp139Ter) p.(Ala1131Thr)	nueva conocida	P VUS	het het	ND
29	22	1.6	22.6	normocaptante	PL	ND	TG	c.5184C>A c.6263-9877A>G	p.(Cys1728Ter) v.intrónica	conocida nueva	P VUS	HetComp	Pa Ma
30	550	0.5	0.2	normocaptante	ND	ND	TG	c.5386C>T	p.(Gln1796Ter)	conocida	P	hom	Ma/ (Pa ND)
31	518	0.2	ND	normocaptante	PS	negativo	TG	c.886C>T c.6262+1delG	p.(Arg296Ter) v.intrónica	conocida conocida	P P	HetComp	Ma Pa
32	91.3	0.7	13.6	hipercaptante	ND	ND	TG	c.886C>T c.5173delC	p.(Arg296Ter) p.(Leu1725PhefsTer28)	conocida conocida	P P	HetComp	Pa Ma
33	540	0.5	1230	normocaptante	PL	negativo	TG	c.7813C>T c.3804C>T	p.(Arg2605Ter) p.(Ser1268=)	nueva conocida	P likelyB	HetComp	Ma (Pa ND)
34	46.7	1.1	159	normocaptante	PL	negativo	TG	c.5767C>T	p.(Pro1923Ser)	nueva	VUS	het	Pa
35	309	0.3	73.5	hipercaptante	PS	negativo	TG	c.886C>T c.3790T>G	p.(Arg296Ter) p.(Cys1264Gly)	conocida nueva	P likelyP	HetComp	Ma Pa
36	13.5	1.5	65.8	hipocaptante	ND	ND	TG	c.3749G>T	p.(Arg1250Leu)	conocida	VUS	het	Ma-h
37	375	0.3	0.2	normocaptante	ND	ND	TG	c.886C>T c.1333C>T	p.(Arg296Ter) p.(Arg445Ter)	conocida nueva	P P	HetComp	Ma-h Pa

P	TSH conf	FT4 conf	Tg conf	Gammagrafía/ Ecografía	F	Perclorato	Gen	Nucleótido	AA	Estado HGMD	Patogenicidad ACMG	Zigosidad	Cosegregación
38	835	ND	0.2	ND/ Bocio	ND	ND	TG	c.5976-1G>A c.7228G>C	v.intrónica p.(Ala2410Pro)	nueva nueva	P VUS	HetComp	ND
39	266.7	0.2	1066	Hipercaptante	ND	ND	TPO	c.2578G>A c.2619-1G>C	p.(Gly860Arg) v.intrónica	conocida nueva	VUS likelyP	HetComp	Pa Ma
40	686	0.5	300	normocaptante	PS	déficit total	TPO	c.2512T>A	p.(Cys838Ser)	conocida	VUS	hom	ND
41	57.8	0.8	ND	ND/normal	PL	déficit parcial	TPO	c.478A>G c.1312C>T	p.(Asn160Asp) p.(Arg438Cys)	conocida nueva	VUS VUS	HetComp	Ma Pa
42	750	0.2	3247	normocaptante	ND	ND	TPO PAX8	c.1943G>A c.1334C>T	p.(Arg648Gln) p.(Thr445Met)	conocida conocida	VUS VUS	hom het	Pa/Ma Ma
43	375	ND	ND	normocaptante	PS	déficit parcial	TPO	c.387delC c.2422delT	p.(Asn129LysfsTers80) p.(Cys808AlafsTer24)	conocida conocida	likelyP P	HetComp	ND
44	445	0.3	300	normocaptante	PS	déficit parcial	TPO	c.1450G>A c.1522T>A	p.(Val484Met) p.(Phe508Ile)	nueva nueva	VUS VUS	HetComp	Pa Ma
45	348.6	0.1	1234	ND/bocio	ND	ND	TPO	c.1993C>T	p.(Arg665Trp)	conocida	VUS	hom	ND
46	474	0.6	2511	Hipercaptante	ND	ND	TPO	c.1184_1187dupGCCG c.1978C>G	p.(Ala397ProfsTer76) p.(Gln660Glu)	conocida conocida	P likelyP	HetComp	Pa Ma
47	15	1.2	101	Hipocaptante	T	negativo	TPO TG	c.1618C>T c.886C>T	p.(Arg540Ter) p.(Arg296Ter)	conocida conocida	P P	het het	ND
48	375	0.3	1500	normocaptante	PS	déficit total	TPO	c.2422T>C c.2387-67G>A	p.(Cys808Arg) v.intrónica	conocida nueva	P VUS	HetComp	Ma Pa
49	375	0.3	1500	normocaptante	PS	déficit total	TPO	c.2422T>C c.2387-67G>A	p.(Cys808Arg) v.intrónica	conocida nueva	P VUS	HetComp	Ma Pa
50	67.7	ND	ND	no captación/normal	T	negativo	DUOX2	c.514-49G>A	v.intrónica	nueva	VUS	het	ND
51	295	0.4	ND	normocaptante	PL	déficit parcial	DUOX2	c.2895_2898del c.3901C>T	p.(Phe966SerfsTer29) p.(Gln1301Ter)	conocida nueva	P P	HetComp	Ma Pa
52	17.1	1.3	1120	Hipercaptante	ND	ND	DUOX2	c.2895_2898del	p.(Phe966SerfsTer29)	conocida	P	hom	Pa/Ma
53	527	0.7	1357	normocaptante	PL	déficit parcial	DUOX2	c.2997delT	p.(Phe999LeufsTer26)	nueva	P	hom	Pa/Ma
54	23.7	1.2	550	Hipercaptante	ND	ND	DUOX2 TG	c.2654G>T c.2654G>A c.4270T>G	p.(Arg885Leu) p.(Arg885Gln) p.(Phe1424Val)	conocida conocida nueva	VUS VUS VUS	HetComp het	Ma-h Pa Ma
55	35.4	1.5	488	Hipercaptante	ND	ND	DUOX2	c.1588A>T c.3329G>A	p.(Lys530Ter) p.(Arg1110Gln)	conocida conocida	P LikelyP	HetComp	Ma-h (Pa ND)
56	50.3	1.5	536	normocaptante	T	negativo	DUOX2	c.602dupG	p.(Gln202ThrfsTer99)	conocida	P	het	Pa
57	50.9	0.7	1370	Hipercaptante	ND	ND	DUOX2	c.2444T>C c.2895_2898del	p.(Leu815Pro) p.(Phe966SerfsTer29)	nueva conocida	VUS P	HetComp	ND
58	375	0.3	1500	normocaptante	PL	negativo	DUOX2	c.4405G>A c.554A>G	p.(Glu1469Lys) p.(Tyr185Cys)	conocida nueva	VUS VUS	HetComp	Pa Ma

P	TSH conf	FT4 conf	Tg Conf	Gammagrafía/Eco	F	Perclorato	Gen	Nucleótido	AA	Estado HGMD	Patogenicidad ACMG	Zigosidad	Cosegregación
59	289	0.5	4588	hipercaptante	ND	ND	<i>DUOX2</i>	c.2895_2898del	p.(Phe966SerfsTer29)	conocida	P	hom	Pa/Ma
60	294	0.3	1.2	normocaptante	T	negativo	<i>DUOX2</i>	c.1060C>T c.2895_2898del	p.(Arg354Trp) p.(Phe966SerfsTer29)	conocida conocida	VUS P	HetComp	Pa Ma
61	375	ND	300	ND/normal	PS	déficit parcial	<i>PAX8</i>	c.117C>A	p.(Ser59Arg)	conocida	VUS	het	Pa
62	13.6	1.2	121	no captación/ normal	PL	negativo	<i>PAX8</i>	c.398G>A	p.(Arg133Gln)	conocida	likelyP	het	Ma
63	42	1.1	ND	hipocaptante	PS	negativo	<i>PAX8</i>	c.196_198del	p.(Tyr66del)	nueva	likelyP	het	ND
64	375	0.3	ND	normocaptante	ND	ND	<i>PAX8</i>	c.398G>A	p.(Arg133Gln)	conocida	likelyP	het	Ma
65	5.3	1.4	157	hipocaptante	PL	déficit parcial	<i>PAX8</i>	c.397C>T	p.(Arg133Trp)	conocida	likelyP	het	Ma-h
66	61.6	1.3	379	normocaptante	PL	negativo	<i>TSRH</i>	c.770C>T c.767dup	p.(Thr257Ile) p.(Asn256LysfsTer6)	nueva nueva	VUS P	HetComp	Pa Pa
67	33.2	1.1	24	hipocaptante	ND	ND	<i>TSRH</i>	c.484C>G	p.(Pro162Ala)	conocida	VUS	hom	Ma-h/Pa
68	19.9	1.5	53.7	hipocaptante	ND	ND	<i>TSRH</i>	c.100G>A c.1349G>A	p.(Glu34Lys) p.(Arg450His)	conocida conocida	VUS likelyP	HetComp	ND
69	100	ND	ND	ND/hipoplasia	ND	ND	<i>TSRH</i>	c.1657G>A	p.(Ala553Thr)	conocida	VUS	hom	ND
70	42	0.8	516	normocaptante	T	negativo	<i>DUOXA2</i>	c.738C>G	p.(Tyr246Ter)	conocida	VUS	het	ND

Tabla 60. Pacientes con variantes genéticas. Valores de TSH expresados en mU/L, valores de FT4 expresados en ng/dL, valores de Tg expresados en ng/mL. F, fentipo en la reevaluación: T, transitorio; PS, permanente severo; PL, permanente leve. AA, aminoácido; ND, no disponible; HGMD, The Human Gene Mutation Database; ACMG, American College of Medical Genetics and Genomics. Patogenicidad según ACMG: VUS, variante de significado incierto; P, patogénica; LikelyP, probablemente patogénica; LikelyB, probablemente benigna; het, heterocigosis; HetComp, heterocigosis compuesta; hom, homocigosis. Cosegregación: Pa, variante heredada del padre; Ma, variante heredada de la madre; Pa-h, variante heredada del padre y madre con disfunción tiroidea; Ma-h, variante heredada de la madre y madre con disfunción tiroidea. Valores de referencia TSH, FT4 y Tg: ver Anexo 1.

DISCUSIÓN

1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES

1.1. SEXO

Hemos analizado las características clínicas y el genotipo de una serie de 70 pacientes afectados de HC con sospecha de DT.

Por lo que se refiere a la distribución de los pacientes según sexo, hemos objetivado un ligero predominio del sexo masculino (58.6% hombres, 41.4% mujeres).

La mayoría de programas de cribado del HC reportan una marcada predominancia del sexo femenino, con unas ratios hombre:mujer de hasta 2:1². Si tenemos en cuenta que las disgenesias tiroideas ocurren con mucha más frecuencia en mujeres y que esta etiología produce aproximadamente el 80% de los casos de HC es de esperar que, de forma global, la prevalencia de mujeres con HC sea significativamente más alta¹.

En las DT no se evidencia esta predominancia en el sexo femenino. Un ejemplo que ilustra esta evidencia es que, en la población china, donde la prevalencia de la DT es bastante más elevada que en nuestro medio, no existen estas diferencias en la incidencia de HC entre hombres y mujeres^{177,178}.

Un estudio neozelandés en el que se analizan 330 pacientes afectados de HC y en el que un 33% de ellos tienen como etiología la DT, concluye que no hay diferencias en cuanto al sexo en este grupo, siendo la ratio mujer:hombre de 0.9:1¹⁷⁹. Estos resultados se acercan a los nuestros, aunque la proporción de hombres en nuestra serie es un poco superior, con una ratio mujer:hombre de 0.7:1.

1.2. EDAD GESTACIONAL Y ANTROPOMETRÍA AL NACIMIENTO

En nuestra serie, la mayoría de los pacientes (90%) son recién nacidos a término. Solo hay un 4.3% de pacientes prematuros y un 5.7 % de pacientes postérmino.

Históricamente, se ha asociado el HC con una tendencia a la gestación prolongada¹⁸⁰. Sin embargo, como refieren algunos autores, el hipotiroidismo fetal no debería contribuir a alargar la duración de la gestación, ya que el feto recibe T4 de la madre por vía transplacentaria y, además, las hormonas tiroideas no están implicadas en la regulación del parto. Estos mismos autores, analizan

varios datos perinatales en una serie de 330 pacientes con HC, de los cuales un 27.8% corresponden a DT según los resultados de la gammagrafía. Nuestros resultados en cuanto a la proporción de pacientes postérmino concuerdan con los suyos, ya que el porcentaje de pacientes postérmino entre los pacientes con sospecha de DT también es baja (3.2%)¹⁷⁹.

En referencia a los 3 pacientes prematuros de nuestra serie (P2, P38 y P55), todos ellos son prematuros tardíos (según clasificación de la OMS). De éstos, 2 tienen un diagnóstico molecular definitivo: P38 presenta 2 variantes en heterocigosis compuesta en el gen *TG* y P55 dos variantes en heterocigosis compuesta en el gen *DUOX2*. El paciente prematuro sin variantes genéticas (P2), presenta un HC transitorio con glándula tiroidea de pequeño tamaño. Los autores del estudio mencionado en el anterior párrafo¹⁷⁹ encontraron un 15% de pacientes prematuros en el grupo con sospecha de DT. Estos autores no realizaron estudio genético en sus pacientes, basando la sospecha diagnóstica únicamente en criterios gammagráficos. Concluyen que, los pacientes afectados de DT, presentan un riesgo más elevado de nacer de forma prematura que los afectados de disgenesia tiroidea. Asimismo, contemplan la hipótesis de que los genes causantes de DT pueden tener efectos pleiotrópicos sobre la duración de la gestación, hecho que podría relacionarse con la prematuridad en estos pacientes. Sin embargo, los autores reconocen que la disfunción tiroidea también podría ser debida a la propia prematuridad¹⁷⁹. La baja prevalencia de pacientes prematuros en nuestra serie (4.3%), donde el diagnóstico de DT está bien fundamentado, apoyaría más esta última conclusión.

Por lo que se refiere al peso al nacimiento, en nuestra muestra el 95.8% de los pacientes presenta un peso al nacimiento adecuado para su edad gestacional. Solo un 2.8% son grandes para la edad gestacional y un 1.4% pequeños para la edad gestacional.

Hay pocos estudios en la literatura que analicen los datos antropométricos neonatales en una población seleccionada de pacientes con HC y GIS, ya que la mayoría engloban poblaciones con HC de etiologías diversas.

El estudio neozelandés en el que se incluyeron 93 pacientes con sospecha de DT no confirmada mediante genética molecular, se aleja de nuestros resultados ya que un 12.9% de sus pacientes fueron pequeños para la edad gestacional y un 10.7% grandes para la edad gestacional¹⁷⁹.

Sin embargo, otro estudio realizado en Irán en el que se comparan 2 cohortes de pacientes, no encuentra diferencias en el peso al nacimiento entre la población con HC y el grupo control. En este estudio, los pacientes no disponían de diagnóstico etiológico, pero un 57.1% de los progenitores eran consanguíneos, hecho que hace pensar que dada la alta frecuencia de herencia recesiva en las

DT, esta podría ser la causa de su HC en más de la mitad de ellos¹⁸¹, de manera que los resultados de este estudio iraní serían parecidos a los que encontramos en nuestra serie.

1.3. ANTECEDENTES FAMILIARES DE HIPOTIROIDISMO

Un total de 29 pacientes (41.4%) presentaron antecedentes familiares de hipotiroidismo.

Estos datos provienen de la anamnesis realizada el día de la primera visita. En algunos casos, al realizar la analítica para el estudio de cosegregación familiar, se constató una función tiroidea normal.

En nuestra serie, se han incluido un total de 4 parejas de hermanos con HC, 3 de ellas corresponden a hermanos con variantes genéticas y una, sin variantes, pero con antecedentes de hipotiroidismo materno.

La madre es el familiar más frecuentemente afectado en nuestros pacientes, ya que, del total de los 70 casos, 18 de ellos (25.7%) presentaban antecedentes maternos de hipotiroidismo y solo 2 (2.8%), antecedentes paternos de hipotiroidismo.

De las 18 madres, un total de 10 (55.5%) eran madres de pacientes sin variantes genéticas. La mayoría de estas madres corresponden a casos de hipotiroidismo gestacional o tiroiditis autoinmune. Como se discutirá más adelante (apartado 2.1, página 167), el paso transplacentario de anticuerpos maternos puede ser la causa del HC en su descendencia. Además, un total de 4 pacientes con antecedentes maternos de hipotiroidismo, también tenían hermanos con antecedentes de HC transitorio, hecho que apoya esta última hipótesis. Las 8 restantes, eran madres de pacientes con variantes genéticas. En 2 de ellas se descartó el hipotiroidismo en una analítica donde presentaban función tiroidea dentro de la normalidad. La correlación del genotipo con el fenotipo clínico de las otras 6 se discutirá en el apartado 2 (página 167).

Cabe destacar que, del total de los 45 pacientes con diagnóstico molecular definitivo, solo 14 (31.1%) presentan antecedentes familiares de hipotiroidismo. En cambio, de los 16 pacientes sin variantes, un total de 11 (68.8%) presentan este antecedente. Podríamos pensar que está relación debería ser a la inversa, pero como veremos en los siguientes apartados, los progenitores de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo, aunque sean portadores de las variantes genéticas encontradas en sus hijos, presentan, en su mayoría, una función tiroidea normal. Este hecho se relaciona con la herencia autosómica recesiva de las DT. La elevada frecuencia de antecedentes

familiares (la mayor parte maternos) entre los pacientes sin variantes, puede indicar, como hemos mencionado anteriormente, el paso de anticuerpos maternos como causa del HC de estos pacientes.

1.4. EDAD A LA PRIMERA VISITA

La edad media el día de la primera visita fue de 17 ± 9.3 días de vida (mínimo 5 días de vida, máximo 48 días de vida). Un 68.6% de los pacientes acudieron a la primera visita antes de los 15 días de vida.

Los datos que se describen en un estudio realizado en población francesa con pacientes con HC y glándula en situación eutópica son muy similares a los nuestros, siendo la edad media a la primera visita de 18.2 ± 13 días de vida⁸².

La trascendencia de efectuar la visita clínica de confirmación del HC en el Centro de Referencia a una edad temprana radica en la necesidad de iniciar el tratamiento sustitutivo con LT4 lo antes posible, una vez que se ha confirmado el diagnóstico de HC. Las guías para el diagnóstico y tratamiento del HC de la ESPE y de la AAP recomiendan no demorar el inicio del tratamiento sustitutivo más allá de las dos semanas de vida, ya que esta sería la edad límite para obtener resultados óptimos en el desarrollo neurocognitivo del paciente^{29,30}. En nuestra serie, una proporción significativa de los pacientes (68.6%) cumplen con esta condición. El resto, acudieron más tarde de las 2 semanas de vida por distintos motivos.

El protocolo del programa de cribado de HC en Cataluña establece que en todo paciente con una TSH de entre 10 y 20 mU/L se requiere la obtención de una segunda muestra para efectuar la confirmación de los niveles de TSH, y así decidir si es preciso derivarlo al Centro de Referencia. En nuestra cohorte, el principal motivo por el cual se retrasó la edad media de la primera visita fue que muchos pacientes precisaron la obtención de una segunda muestra.

Un estudio escocés en el que se analizaron estrategias para reducir la edad de la notificación después de las muestras de cribado, demostró que un 31.9% de los pacientes fueron sometidos a una segunda prueba para la confirmación del resultado. En un 8.8% de los pacientes esta segunda muestra fue tomada con más de 26 días de vida¹⁸². Otro estudio realizado en población neozelandesa en el que se revisan datos del protocolo de cribado del HC en un periodo de 2 años, refiere que la edad a la primera visita es de 9 días de media (5-14) para los neonatos con TSH de cribado ≥ 30 mU/L y de 20 días (9-52) para los que precisan el análisis de una segunda muestra¹⁸³.

Estos datos apoyan nuestros resultados, ya que se demuestra que la necesidad de la obtención de una segunda muestra retrasa la edad a la que el paciente es remitido al Centro de Referencia.

En nuestra serie, algunos de los pacientes acudieron más tarde de lo previsto a la primera visita porque precisaron ingreso hospitalario en el periodo neonatal por problemas médicos diversos, como sepsis o problemas respiratorios.

1.5. NIVELES DE TSH EN EL CRIBADO NEONATAL Y VALORES HORMONALES CONFIRMATORIOS

Los valores de TSH en el cribado neonatal en los pacientes de nuestro estudio son los siguientes: mediana de 61.7 mU/L, con un valor mínimo de 10.1 mU/L y un valor máximo de 381 mU/L.

En nuestro estudio, hemos incluido 5 pacientes que presentaron valores de TSH alterados en el cribado neonatal y que, en la determinación hormonal realizada el día de la primera visita en el Centro de Referencia, no se confirmó una elevación de TSH por encima de 10 mU/L, es decir, pacientes falsos positivos. Esto corresponde a un 7.1%, respecto al total de la serie. Estos pacientes presentaron unos niveles de TSH en el cribado de entre 19 mU/L y 30.6 mU/L. Hay que destacar que uno de estos pacientes presenta un hipotiroidismo permanente en la reevaluación diagnóstica, las características del cual se discutirán en el apartado 5 (página 195).

Un trabajo que analizó el valor predictivo de los niveles de TSH en el cribado neonatal en una población canadiense de 541 neonatos con un cribado positivo (TSH \geq 17 mU/L más tarde de las 24 horas de vida) detectó un 76.1% de falsos positivos entre aquellos que presentaban niveles de TSH de cribado de entre 17 y 19.9 mU/L y un 61.2% de falsos positivos entre aquellos cuyos niveles de TSH estaban en el intervalo de 20-29.9 mU/L. Estos autores calculan un valor predictivo positivo del 30% para aquellos pacientes con niveles de TSH de cribado de 17-29.9 mU/L¹⁸⁴. El porcentaje de falsos positivos para intervalos de TSH de cribado similares es mucho menor en nuestro trabajo ya que, de los 24 pacientes con unos valores de TSH de cribado de entre 10-31 mU/L, solo 5 son falsos positivos, es decir, un 20.8%. Esta comparación debe tomarse con cautela ya que el tamaño muestral del trabajo canadiense es mucho mayor y las muestras de cribado se toman en tiempos diferentes (la mayoría antes de las 30 horas de vida en la serie canadiense vs a partir de las 48 horas de vida en nuestra serie).

Los niveles hormonales confirmatorios en el momento del diagnóstico de nuestra serie, expresados en mediana (rango intercuartílico), son los siguientes: TSH de 95.7 mU/L (26.8-375), FT4 de 0.9 ng/dL (0.4-1.3) y Tg de 182 ng/mL (53.7-550).

En un estudio realizado en población francesa en el que se incluyeron 92 pacientes con HC con glándula en situación eutópica, los valores de la mediana (p25-p75) de la TSH y la FT4 en el momento de la confirmación diagnóstica fueron de 69 mUI/L (35-230) y 0.99 ng/dL (0.56-1.21), respectivamente¹⁸⁵. Los niveles de FT4 son muy similares a los de nuestra serie y los de TSH ligeramente inferiores.

Si comparamos los niveles hormonales de nuestro trabajo con los de un grupo de 20 pacientes con sospecha de DT procedentes del programa de cribado escocés, la TSH es también similar a la nuestra (mediana 100 mU/L, rango 18-250) pero la FT4 es significativamente más baja (mediana de 0.64 ng/dL, rango de 0.27-1.21)¹⁸⁶. Los niveles de Tg de los pacientes de este último trabajo son más elevados que los de nuestra serie (mediana 997 ng/mL, rango 17-4995, excluidos pacientes con Tg <2, frente a los 182 ng/mL, rango 53.7-550 de nuestra serie), aunque los niveles máximos encontrados en ambos estudios son muy similares. Estas diferencias entre los niveles de FT4 y de Tg de nuestro trabajo y el escocés pueden ser debidas al tamaño muestral (70 vs 20) y/o al grado de severidad del hipotiroidismo.

Cabe destacar que hemos detectado niveles significativamente elevados de Tg en algunos de nuestros pacientes. Los valores normales de Tg en niños sanos de entre 4 y 30 días no deberían exceder los 115-250 ng/mL^{176,187}. En nuestra serie, 17 pacientes presentan niveles de más de 500 ng/mL y, de estos, 14 de más de 1000 ng/mL (máximo 4588 ng/mL). Estos valores excesivamente altos de Tg también se han descrito en otras series^{187,188,189}. Un estudio realizado en Holanda en pacientes con HC, detectó niveles de Tg de 300-2100 ng/mL en neonatos con sospecha de defectos en la biosíntesis de las hormonas tiroideas. Además, encontraron niveles de Tg de 800-2060 mg/mL en pacientes con un diagnóstico confirmado de defectos de organificación del yodo en la reevaluación diagnóstica. En este estudio, del año 1983, los autores sugieren que estos valores podrían ser debidos a que la Tg con bajos grados de yodación abandonaría el tirocito con más facilidad, apoyada por el efecto que ejerce la TSH, elevada en todos los casos, sobre su secreción¹⁸⁷. Uno de los mecanismos que podrían contribuir a la elevación de la Tg en sangre en estos pacientes sería producto del incremento de función de la megalina, una proteína que actúa bajo el estímulo directo de la TSH transportando Tg desde la membrana apical hasta la basolateral evitando su paso por los lisosomas, un proceso conocido como transcitosis. Esta transcitosis de la Tg mediada por la megalina tiene una actividad muy baja en condiciones normales, pero bajo estímulos intensos de

la TSH, aumenta de manera exponencial su expresión en los tirocitos, aumentando así el paso de Tg al torrente sanguíneo^{190,148}.

Un 73.2% de nuestros pacientes con TSH confirmatoria por encima de 50 mU/L tiene cifras de FT4 inferiores a 0.8 ng/dL. En cambio, todos los pacientes con niveles de TSH inferiores a este umbral, presentan cifras de FT4 superiores a 0.8 ng/dL. Por lo tanto, se constata el hecho de que los pacientes que tienen niveles de TSH confirmatoria superiores a 50 mU/L son los que presentan un grado más severo de hipotiroidismo. Como las cifras de TSH de cribado y las confirmatorias tienen una correlación fuertemente positiva (0.71), podríamos extender esta premisa a que cifras de TSH superiores a 50 mU/L en el cribado del HC orientan hacia una mayor severidad en la alteración de la función tiroidea. Un estudio realizado en población escocesa en el que se analiza esta relación de valores hormonales, llega a unas conclusiones similares a las nuestras. Estos autores refieren que cifras de TSH de cribado superiores a 40 mU/L predicen valores de FT4 inferiores a 1 ng/dL con una sensibilidad del 90.3% y que los pacientes con niveles de TSH inferiores a este límite tienen solo un 10% de probabilidades de presentar valores de FT4 inferiores a 1 ng/dL¹⁹¹.

1.6. GAMMAGRAFÍA ^{99m}Tc Y ECOGRAFÍA TIROIDEAS

En nuestra serie, al 90% de los pacientes se les efectuó una gammagrafía tiroidea con ^{99m}Tc el día de la primera visita en el Centro de Referencia al que son remitidos para la confirmación diagnóstica. En el 10% restante esta prueba no se pudo realizar porque los pacientes ya habían iniciado el tratamiento sustitutivo. En estos pacientes, dada la posibilidad de falsa ausencia de captación en la gammagrafía, se realizó una ecografía tiroidea, en la que se confirmó una glándula en situación eutópica. Los resultados de la gammagrafía se clasificaron según el grado de captación isotópica y no según el tamaño glandular, ya que para medir el tamaño del tiroides y poder catalogarlos de bocio o hipoplasia tiroidea deberíamos basarnos en la ecografía, al ser la prueba que tiene un mayor rendimiento para calcular el volumen glandular^{60,186}. Esto se confirma en nuestro estudio, ya que, en 6 de los 14 pacientes con captación disminuida en la gammagrafía, se objetivó una glándula normosituada y de tamaño normal en la ecografía y solo en uno de ellos se diagnosticó una verdadera hipoplasia tiroidea.

Casi la mitad de los pacientes de nuestra serie, un 47.1%, presenta una glándula tiroidea con captación normal de radioisótopo en la gammagrafía. Un 20% presenta disminución de la captación y solo un 18.6% una glándula con aumento de captación. Si tenemos en cuenta que, de forma

global, las causas más frecuentes de DT son las que no implican defectos en la captación del yodo, sería de esperar que la mayoría de los pacientes tuvieran glándulas hipercaptantes. En referencia a esto último, un estudio que tuvo como objeto analizar las discordancias existentes entre la ecografía y la gammagrafía tiroideas en pacientes con HC define como casos de DT solo a los pacientes que presentan un aumento de captación glandular¹⁸⁹. Un estudio realizado en la India, encuentra que del total de 19 pacientes con HC y glándula eutópica, el 100% tienen una glándula hipercaptante¹⁹². Sin embargo, la única información que nos debe dar una hipercaptación en la gammagrafía es que muy probablemente el defecto se localice en uno de los puntos de la cascada de la biosíntesis de las hormonas tiroideas más allá de la captación del yodo, ya sea a nivel de síntesis de Tg, organificación o reciclaje del yodo. Los defectos de la acción de la TSH sobre su receptor, ya sea por mutaciones inactivadoras del TSHR o por anticuerpos maternos bloqueantes, dan lugar a una baja captación, así como los defectos en la captación del yodo por mutaciones en NIS, que pueden simular incluso una agenesia tiroidea por ausencia total de captación^{2,62}. Por lo tanto, un patrón gammagráfico sin hipercaptación no debe hacernos descartar una posible DT. De hecho, un estudio realizado en Israel en el que se incluyeron 84 pacientes con glándula en situación eutópica detectó que un 35.7% de estos presentaban aumento de captación en la gammagrafía y que, el resto (64.3%), eran normo o hipocaptantes. El objetivo principal de este estudio era analizar los factores predictivos para orientar hacia formas transitorias o permanentes. De los pacientes con GIS, solo un 20% resultaron transitorios, por lo que probablemente la mayoría de los casos normo e hipocaptantes correspondían a DT. Además, los autores concluyen que la utilidad actual de la gammagrafía en los pacientes con GIS está en entredicho ya que no encuentran relación entre los diferentes patrones de captación y la evolución del HC¹⁹³. La distribución de los pacientes según el grado de captación gammagráfica de este estudio es bastante similar a la de nuestra serie, ambas con una clara predominancia de glándulas normo e hipocaptantes. Aún así, cabe resaltar que, en nuestra serie, el número de pacientes con glándula tiroidea hipercaptante es prácticamente el mismo que el de pacientes con patrón hipocaptante.

En un total de 3 pacientes se objetiva una ausencia total de captación gammagráfica con una ecografía que demuestra una glándula eutópica de tamaño normal. Ninguno de ellos había iniciado tratamiento sustitutivo. Los niveles de TSH y los días de vida cuando se realizó la gammagrafía son los siguientes: 234 mU/L (13 días), 67.7 mU/L (40 días) y 13.6 mU/L (18 días). Se ha demostrado que pacientes con niveles no suprimidos de TSH pueden presentar ausencia de captación, así como pacientes con niveles de TSH suprimida pueden captar radioisótopo de manera normal¹⁸⁶. Estos 3 pacientes corresponden a un paciente sin variantes genéticas y 2 pacientes con variantes en

heterocigosis simple en *DUOX2* y *PAX8*. Las posibles causas de esta ausencia de captación se discutirán en los apartados 2.1, 2.4 y 2.5 (páginas 167, 181 y 185 respectivamente).

1.7. RELACIÓN ENTRE LA EVOLUCIÓN CLÍNICA DE LOS PACIENTES Y EL RESULTADO DE LA GAMMAGRAFÍA TIROIDEA AL DIAGNÓSTICO

En referencia a la relación entre los niveles hormonales confirmatorios y el resultado de la gammagrafía tiroidea, hemos encontrado correlaciones significativas entre el grado de gravedad del hipotiroidismo y los distintos patrones de captación gammagráficos.

Un estudio australiano en el que se analiza la relación entre los niveles de TSH y los resultados gammagráficos también encuentra que, teniendo en cuenta los grupos que nosotros analizamos, los niveles de TSH más elevados se obtienen en los pacientes con glándulas hipercaptantes y normocaptantes y los más bajos en las hipocaptantes. Estos resultados concuerdan con los nuestros, aunque en su estudio las diferencias entre estos 3 grupos no son estadísticamente significativas. Estos autores solo concluyen que existen diferencias significativas en los niveles de TSH entre el grupo normocaptante y los grupos ectópicos y con ausencia de captación, siendo más elevados en estos 2 últimos¹⁹⁴. Por lo que se refiere a la FT4, lo que cabe destacar de nuestros resultados es que sus niveles son significativamente más elevados en el grupo hipocaptante que en los otros dos.

Presumiblemente, los grupos normocaptante e hipercaptante presenten niveles más altos de TSH porque el grado de severidad del hipotiroidismo por lo que se refiere a la FT4 es mayor, es decir, a menor FT4 más elevación de TSH, como es de esperar. Asimismo, en los pacientes con glándulas hipocaptantes sería todo lo contrario, menor elevación de TSH por menor afectación en la FT4.

De nuestro estudio se puede concluir que, en general, los pacientes con un grado más severo de hipotiroidismo en el momento del diagnóstico son los que presentan glándulas hipercaptantes y normocaptantes, y los que presentan un grado leve de disfunción tiroidea son los que tienen glándulas hipocaptantes.

No hay trabajos en la literatura en los que se haya realizado este estudio, por lo que no podemos comparar nuestros resultados con los de otros autores.

Es probable que esta asociación sea debida a que, los pacientes con glándulas hipocaptantes presenten un hipotiroidismo más leve porque su etiología no provoca un grado de disfunción tiroidea tan severa. Las causas de HC que van acompañadas de glándula normosituada con baja

captación son, entre otras, la presencia de anticuerpos bloqueantes maternos (TBAbs). Si tenemos en cuenta que el 50% de nuestros pacientes con glándula hipocaptante tiene antecedentes maternos de hipotiroidismo, ya sea instaurado o subclínico, es probable que se trate de pacientes con un grado leve de hipotiroidismo y que, además, éste acabe siendo transitorio. La presencia de antecedentes maternos en el grupo hiper y normocaptante es bastante menor, de 15.3% y 18.1% respectivamente, hecho que apoya la anterior hipótesis.

Por otro lado, la severidad de los pacientes con glándula hipercaptante también radica probablemente en la causa subyacente. Las causas de un HC con GIS hipercaptante corresponden, fundamentalmente, a defectos en la biosíntesis de las hormonas tiroideas situados en un nivel más allá de la captación del yodo, etiología que causará con alta probabilidad un hipotiroidismo severo en el momento del diagnóstico. Es de esperar que los pacientes con glándula normocaptante, con un grado de severidad similar a los anteriores, sean también pacientes afectados de defectos genéticos.

Como ya se ha mencionado anteriormente, hay autores que estiman que la utilidad actual de la gammagrafía en los pacientes con GIS es dudosa, ya que no encuentran relación entre los diferentes patrones y la evolución del HC¹⁹³. En nuestro estudio hemos encontrado diferencias significativas en el patrón gammagráfico según la presencia de variantes genéticas, aunque estas diferencias no se dan dentro del grupo normocaptante, ya que su frecuencia es muy similar en los 3 grupos de pacientes: un 55% de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo, un 44.5% del grupo con variantes en heterocigosis y el 50% del grupo sin variantes, presentaron este patrón gammagráfico. Además, un 77.3% de los pacientes con hipotiroidismo permanente presentaron un patrón glandular normocaptante, pero en el grupo con hipotiroidismo transitorio, más de la mitad de los pacientes (53.3%) también presentaba este patrón. Cabe destacar, que los genes afectados con una frecuencia más alta en este tipo de patrón (normocaptante) fueron *TG* y *TPO* (64.7% y 75% de los pacientes respectivamente), que son, además, los que presentan el fenotipo clínico más grave. De estos resultados, podemos concluir, que la evolución clínica de los pacientes se relaciona más con el defecto genético subyacente, que no con el patrón glandular al diagnóstico. Por lo tanto, nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la relación entre los distintos patrones glandulares y la evolución del HC es dudosa.

1.8. TRATAMIENTO SUSTITUTIVO AL DIAGNÓSTICO

La dosis media de LT4 de los pacientes de nuestra serie tras ser diagnosticados es de 9.1 ± 2.2 mcg/kg/día.

La AAP y la ESPE recomiendan una dosis inicial de LT4 de 10-15 mcg/kg/día, ajustando la dosis según el grado de severidad del hipotiroidismo^{29,30}.

En un estudio realizado en Turquía con una muestra de pacientes con unas características bastante similares a nuestra población, se administra una dosis inicial de LT4 un poco más elevada que la nuestra (10.9 ± 2.9 mcg/kg/día). Sin embargo, los autores concluyen que una proporción importante de sus pacientes recibieron un exceso de dosis: un 61.5% de los que iniciaron LT4 a dosis de 12-17 mcg/kg/día y un 25% de los que recibieron dosis de 6-9.9 mcg/kg/día. Ninguno de sus pacientes recibió una dosis inicial insuficiente¹⁹⁵.

Son varios los estudios que reportan resultados similares a este último y que sostienen que las dosis recomendadas en la actualidad son, probablemente, demasiado elevadas.

En un estudio en el que se incluyeron 104 pacientes con HC se demostró que un 57.1% de los niños con dosis iniciales de más de 12.5 mcg/kg/día requerían ajuste de dosis por sobredosificación. En cambio, solo el 15.9% de los pacientes con una dosis inicial menor de 12.5 mcg/kg/día precisaba aumentar la dosis. Además, concluyeron que los pacientes que alcanzan el estado de hipertiroidismo tardan más en normalizar sus niveles de TSH comparado con los que no requieren ajuste de dosis y los que precisan incrementarla⁷⁷. Otros autores que estudiaron el efecto del tratamiento sustitutivo al cabo de un mes de su inicio, encontraron unas tasas de sobretratamiento del 37.5% con dosis de 6-9.9 mcg/kg/día, del 55% con 10-11.9 mcg/kg/día y del 75% con 12-15 mcg/kg/día. En este estudio se sugieren dosis iniciales de 10-11.9 mcg/kg/día si la TSH es mayor a 100 mU/L y de 8-10 mcg/kg/día si es inferior a 100 mU/L¹⁹⁶.

Además, no solo el inicio tardío del tratamiento y la infradosificación pueden provocar problemas neurocognitivos a largo plazo. Se ha demostrado que un exceso de dosis puede conllevar también a un mal pronóstico neurocognitivo. Un estudio realizado en Canadá en el que se valoraba la inteligencia y las habilidades neurocognitivas de pacientes con HC cuando llegaban a los 7-8 años, demostró que dosis iniciales de LT4 superiores a 10 mcg/kg/día provocaban problemas de comportamiento asociados a ansiedad, hiperactividad y aislamiento social. Estos autores sugieren que una dosis inicial de 7.5-10 mcg/kg/día es suficiente para mejorar el pronóstico intelectual de estos pacientes y evitar problemas de conducta⁷⁸. Otros autores han demostrado que dosis iniciales

en el límite alto del rango recomendado en la actualidad dan lugar a un coeficiente intelectual a los 14 años de edad inferior al de controles sanos de igual sexo y estatus socioeconómico¹⁹⁷.

La dosis inicial de LT4 de nuestros pacientes está un poco por debajo del límite inferior de las dosis recomendadas en la actualidad. Aunque el objetivo de nuestro estudio no es el de analizar el pronóstico neurocognitivo de los pacientes ni la necesidad de ajustar el tratamiento, esta dosis inicial parece bastante adecuada según los estudios reportados y nuestra experiencia clínica.

2. RELACIÓN FENOTIPO-GENOTIPO

2.1. PACIENTES SIN VARIANTES GENÉTICAS

Un total de 16 de los 70 pacientes (22.9%) de nuestra serie no son portadores de ninguna variante genética.

De estos 16 pacientes sin variantes genéticas, 12 han sido reevaluados. Un 83.4% de estos presentan un HC de carácter transitorio.

La etiología del HC transitorio es variada, siendo las principales causas la deficiencia o exceso de yodo, el hipotiroidismo materno autoinmune, el tratamiento materno con fármacos antitiroideos y algunas DT (por variantes en el gen *DUOX2*)¹⁹⁸.

En nuestra serie, deberíamos valorar principalmente el déficit de yodo y la enfermedad autoinmune materna, ya que no se ha incluido ningún paciente que presente el antecedente de madre tratada con fármacos antitiroideos y el estudio genético ha descartado variantes en los principales genes causantes de DT. En nuestro hospital, hace mucho tiempo que no se utilizan compuestos yodados para realizar las curas del cordón umbilical, pero todavía se siguen utilizando en las cesáreas, por lo que no podríamos descartar con seguridad el exceso de yodo como factor etiológico en estos niños, aunque solo 4 de los pacientes de este grupo (P1, P9, P11 y P13) nacieron por cesárea.

Por lo que se refiere al HC por hipotiroidismo autoinmune materno, los TBAbs juegan un papel importante, ya que pueden contribuir a la severidad del hipotiroidismo inhibiendo la proliferación celular y la hormonogénesis TSH-dependiente¹⁹⁹. Aunque como causa de HC la incidencia de esta entidad etiológica es baja, la presencia de estos anticuerpos en el hipotiroidismo autoinmune no lo es tanto. En un estudio publicado por Feingold *et al.*, en el que se estudia la prevalencia de TBAbs

en 87 niños y adolescentes afectados de tiroiditis linfocitaria crónica, se encuentra que un 9.2% de estos pacientes presenta estos anticuerpos, siendo más frecuentes (17.8%) entre los casos con hipotiroidismo severo (TSH \geq 20 mU/L). Estos autores refieren que, además, cuando estos anticuerpos se encuentran en elevadas concentraciones, tienden a persistir en el tiempo, hecho que nos permitiría identificar a chicas adolescentes en riesgo de tener descendencia con HC en un futuro²⁰⁰.

En el grupo de pacientes sin variantes genéticas, 6 de los que presentan un HC transitorio, tienen antecedentes maternos de hipotiroidismo. En 4 de ellos se analizaron TPOAb y TgAb, siendo el resultado negativo. Debemos remarcar que, a pesar del carácter transitorio de estos pacientes, en 3 de ellos el grado de severidad del hipotiroidismo al diagnóstico era grave (FT4 0.2-0.4 ng/dL y TSH 150-500 mU/L). Además, en 2 de estos pacientes la gammagrafía inicial resultó patológica: ausencia total de captación en uno y glándula hipocaptante con hipoplasia tiroidea en la ecografía en el otro. La hermana del paciente con ausencia de captación gammagráfica presenta un grado menos severo de hipotiroidismo (FT4 1 ng/dL, TSH 129 mU/L), pero su gammagrafía muestra una hipocaptación.

Estos resultados guardan una similitud muy significativa con algunos estudios publicados en la literatura de pacientes afectados de HC transitorio por TBAb^{23,201}. Los otros 2 pacientes con antecedentes de hipotiroidismo materno presentaban un grado más leve de hipotiroidismo.

En el estudio de Brown *et al.*, se detallan las características de 11 neonatos con HC transitorio por TBAb maternos. Estos niños presentaban unos niveles de T4 total muy bajos, de 3.4-11.5 mcg/dL, y de TSH superiores a 200 mU/L. En los 4 pacientes con el grado de hipotiroidismo más severo la gammagrafía mostró ausencia total de captación. Estos pacientes son los que presentaban una actividad inhibitoria de la TSH más potente. Los autores concluyen también que los TPOAb, aunque resultaron positivos en todas las madres, no son útiles para predecir el desarrollo de hipotiroidismo en la descendencia y que son los TBAb los que se deberían estudiar en casos de neonatos con HC hijos de madres hipotiroideas, especialmente si ya han tenido descendencia afectada con anterioridad²³.

En otro estudio publicado por Evans *et al.*, se describía una serie de 7 casos con HC transitorio por TBAb. Los niveles de TSH y FT4 al diagnóstico eran de 21 a 752 mU/L y de 0.1 a 2 ng/dL, respectivamente. En 2 pacientes encontraron ausencia total de captación en la gammagrafía diagnóstica y en 3 de ellos una glándula hipoplásica en la ecografía. Estas anomalías radiográficas también estaban presentes en los pacientes con mayor grado de disfunción tiroidea²⁰¹.

Aunque la incidencia de HC por TBAb reportada por estos autores es baja (2% según Brown *et al.*; 1.6% según Evans *et al.*), nuestros pacientes con antecedentes maternos de hipotiroidismo, afectación severa de la función tiroidea y sin variantes genéticas en el estudio molecular, podrían presentar, muy probablemente, un HC transitorio debido a la presencia de TBAb.

En ninguno de los pacientes en los que se estudiaron TPOAb y TgAb se obtuvieron resultados positivos. En nuestro centro, los TBAb no se realizan de manera rutinaria en la práctica clínica, ya que estos anticuerpos presentan una importante heterogeneidad funcional y para medir si su efecto es inhibitor o estimulante se deberían realizar estudios biológicos (bioensayos) para cuantificar su actividad²⁰².

Los 5 pacientes sin antecedentes de hipotiroidismo materno presentaban un grado de hipotiroidismo leve al diagnóstico (FT4 0.9-1.8 ng/dL y TSH 6-111 mU/L). En 2 de ellos, la gammagrafía mostró una glándula hipocaptante. Este hallazgo gammagráfico en estos pacientes podría corresponder también a un HC mediado por TBAb, ya que se han descrito algunos casos de madres que desconocían que estaban afectas de hipotiroidismo antes de tener un hijo afecto de HC²⁰¹. El exceso de yodo, aunque poco probable, también debería incluirse como causa del patrón hipocaptante en estos casos¹⁹⁸. Aunque el estudio molecular ha resultado negativo en estos pacientes, no podríamos excluir una resistencia a la TSH, ya que en la literatura existen diversos casos de pacientes con distintos grados de hipotiroidismo y hipoplasia glandular con resistencia a la TSH en los que no se han encontrado mutaciones en el gen *TSHR*²⁰³⁻²⁰⁵. Los autores de estos trabajos concluyen que se deben tener en cuenta otros mecanismos que pueden influir en la resistencia a la TSH, como la reducción de la expresión del gen a causa de posibles defectos en alguno de sus factores reguladores. El factor de transcripción TTF-1, que no se ha estudiado en estos pacientes dada la buena evolución de la enfermedad, podría ser uno de ellos. Otra posibilidad a considerar son los defectos en moléculas que participan en la vía de señalización y que podrían influir en la producción de cAMP en la célula tiroidea²⁰³. En referencia a esto último, la vía Gq/fosfolipasa C- β regula la síntesis hormonal estimulando el eflujo apical y la organificación del yodo, mediante la activación de DUOX2. Los autores de este artículo de revisión, creen que mutaciones en *TSHR* que alteren el equilibrio entre las proteínas Gs y Gq podrían anular la señal de la vía Gq y de esta manera, producir un déficit parcial en la organificación del yodo. Concluyen que *TSHR* se debería considerar gen candidato en alteraciones en la organificación del yodo inexplicables¹²⁴. Este hecho podría explicar el déficit parcial de la organificación del yodo que hemos encontrado en 3 de estos pacientes, uno de ellos con HC permanente (paciente P8).

En los 2 pacientes con diagnóstico de HC permanente (P8 y P10), se podría plantear realizar una nueva reevaluación, ya que las dosis de LT4 que precisan en la actualidad son bajas para su edad.

Por lo que se refiere a los 4 pacientes sin variantes no reevaluados, 2 requieren unas dosis de LT4 que, según nuestros resultados, son sugestivas de HC permanente (P4 y P11). En estos dos últimos pacientes, si se confirma un HC permanente, se debería valorar el estudio del panel ampliado de DT o bien plantear el estudio del exoma completo para identificar otros genes que puedan estar implicados en el fenotipo. El otro paciente, que presentó una gammagrafía hipocaptante y antecedentes maternos de hipotiroidismo, requiere unas dosis sugestivas de HC transitorio. La gammagrafía y la evolución de este último caso nos hacen pensar en un HC por anticuerpos maternos. El otro paciente perdió el seguimiento clínico.

Debemos recordar que, en este estudio, las variantes a las que nos referimos son aquellas con una frecuencia inferior al 1% en la población control y con posible patogenicidad o VUS. En los siguientes apartados se discuten los resultados de los pacientes con variantes, según el gen afecto.

2.2. PACIENTES CON VARIANTES EN TG

Un 32.8 % del total de los pacientes de nuestra serie presentan variantes en el gen *TG*, siendo este el gen más frecuentemente afectado en nuestros pacientes. En un estudio realizado por Nicholas *et al.* donde se incluyeron 49 pacientes con HC y GIS, la frecuencia de variantes en *TG* fue todavía más elevada, ya que un 55% de los casos presentaba variantes en este gen²⁰⁶. Un estudio realizado en Japón, donde se estudiaron pacientes con HC y cifras de Tg bajas, detectó variantes en este gen en el 68.4% de ellos²⁰⁷.

Hemos detectado 28 variantes distintas en este gen, de las cuales 16 son nuevas (57.1%), es decir, no han sido previamente descritas en la literatura.

La variante más frecuente en el gen *TG* en nuestra serie es la c.886C>T, p.(Arg296Ter), detectada en 11 pacientes. Estos datos coinciden con los de la literatura, donde se considera también la mutación más frecuentemente reportada en este gen y es, además, una de las más frecuentes en la población caucásica^{208,171}. Esta variante se localiza en el exón 7 y genera una proteína truncada que ha perdido el dominio hormogénico carboxi-terminal, lo que conlleva una pérdida de capacidad para formar hormona. Además, esta proteína truncada tiene una capacidad reducida de ser exportada del retículo endoplasmático. Esto último es debido a la unión masiva de chaperonas a la proteína truncada, las cuales se encargan de prevenir la exportación de proteínas mal plegadas.

Estudios de haplotipos indican que la recurrencia de esta mutación es debida a que se encuentra en un punto caliente (*hot spot*)²⁰⁹. A diferencia de lo que ocurre con otras variantes en *TG*, estudios *in vitro* han demostrado que no existen mecanismos de *splicing* alternativo del exón 7 que sean capaces de eliminar la mutación p.(Arg296Ter) y de reestablecer el marco de lectura normal²⁰⁸. Según los criterios de la ACMG esta variante se clasifica como patogénica.

De estos 11 pacientes portadores de la variante p.(Arg296Ter), uno de ellos (P47) es heterocigoto compuesto para esta variante en *TG* y para una variante en el gen *TPO*. El resto (n=10) son heterocigotos compuestos para esta variante y para otras variantes en *TG*. De estos pacientes, 8 presentan un HC permanente según los resultados de la reevaluación o las dosis predictoras. Los otros 2 pacientes son el P32 y el P22.

El P32, que no está reevaluado y presenta el genotipo p.(Arg296Ter)/p.(Leu1725PhefsTer28), con cada una de las variantes heredada de un progenitor, requiere unas dosis de LT4 durante su evolución sugestivas de HC transitorio. Sin embargo, p.(Leu1725PhefsTer28) está clasificada también como patogénica, por lo que ambas variantes en este paciente son patogénicas. Esto último debería resultar en una proteína Tg no funcional, por lo que sería de esperar que el HC tuviera un carácter permanente y no transitorio. Es posible que, en este paciente, exista algún otro condicionante que desconocemos que compense esta Tg disfuncional, aunque, para confirmar su fenotipo, debería efectuarse una reevaluación, suspendiendo durante un mes el tratamiento sustitutivo.

El P22 es portador de 3 variantes distintas en *TG*: p.(Arg296Ter), p.(Gly2061Arg) y p.(Arg2585Trp). Dos de estas variantes son heredadas del padre, y una de la madre. La variante p.(Gly2061Arg) es nueva y se clasifica como probablemente benigna. La variante p.(Arg2585Trp), aunque está descrita en pacientes con HC, también se clasifica como probablemente benigna²¹⁰. Cabe destacar que este paciente presenta unas cifras de Tg elevadas tanto en el momento del diagnóstico (455 ng/mL) como en la reevaluación (82.5 ng/mL) y que presenta una hipertirotrópinemia que requiere tratamiento sustitutivo a dosis bajas, por lo que es probable que las dos variantes probablemente benignas jueguen un papel poco significativo en su fenotipo clínico.

El P29 presenta un hipotiroidismo permanente de carácter leve, con unos niveles bajos de Tg al debut, pero normales en la reevaluación. Este paciente es portador de la variante p.(Cys1728Ter), heredada por vía paterna, que predice una proteína truncada y está clasificada como patogénica, y la variante intrónica c.6263-9877A>G, heredada por vía materna, clasificada como VUS y que, según los predictores, podría dar lugar a una nueva posición donadora de *splicing* generando un cambio

en la composición de la proteína. Aún así, debemos considerar la posibilidad de que esta variante intrónica tenga poca repercusión a nivel funcional, hecho que explicaría el fenotipo leve de este paciente.

El P33 es portador de las variantes p.(Arg2605Ter) y p.(Ser1268=), ambas no descritas previamente en la literatura. Esta última, que es heredada de la madre, es un cambio sinónimo que no debería afectar la composición de la proteína y según los criterios de la ACMG es probablemente benigna, aunque se ha tenido en cuenta por encontrarse en menos del 1% de la población. La primera, predice el cambio del aminoácido arginina en posición 2605 por un codón de terminación, dando lugar a una proteína Tg truncada. Es una posición muy conservada y se clasifica por la ACMG como probablemente patogénica. Este paciente presenta un HC grave al diagnóstico (FT4 0.5 ng/dL) con una cifra de Tg muy elevada (1230 ng/mL) y, en la reevaluación, un hipotiroidismo permanente leve. En este paciente, en el cual la cifra de Tg no es sugestiva de un defecto cuantitativo de esta proteína, se está considerando la posibilidad de una herencia oligogénica, por lo que se está revisando la implicación de otros genes, especialmente *DUOX1*. Este gen podría estar implicado en el fenotipo clínico de este paciente, ya que, tanto la evolución del hipotiroidismo, como los niveles elevados de Tg, hallazgo muy común en los defectos de la organificación del yodo, podrían estar justificados por una alteración en la función de la proteína *DUOX1*.

Estos 3 últimos pacientes que se han descrito (P22, P29 y P33), no presentan unas cifras bajas de Tg. Esto podría ser debido a que algunas moléculas de Tg anómala logran escapar del retículo endoplasmático hacia el coloide, permitiendo así la síntesis de pequeñas cantidades de hormonas tiroideas, a través de una molécula de Tg con una actividad biológica alterada (defecto cualitativo). Por ello, aunque es poco frecuente, debemos tener en cuenta que unos niveles séricos normales o elevados de Tg no excluyen alteraciones de su molécula, ya que mutaciones puntuales o variantes del mRNA en los procesos translacionales pueden inducir la producción de proteínas anómalas, pero que conservan inmunorreactividad²¹¹.

El P31 es heterocigoto compuesto para las variantes p.(Arg296Ter)/c.6262+1delG, cada una de ellas heredada de un progenitor. La variante intrónica c.6262+1delG constituye una delección de guanina en el sitio donador de *splicing* del intrón 35. Esto causa una omisión del exón 35 y genera una proteína con 21 aminoácidos menos. Estudios *in vitro* con células HEK293 han demostrado que esta proteína se sintetiza pero no se puede liberar al lumen folicular, quedando retenida en el retículo endoplasmático²¹². Estas dos variantes patogénicas justifican el fenotipo severo de este paciente.

La variante patogénica p.(Gln1796Ter), que se localiza en el exón 27, está presente en 2 de nuestros pacientes con fenotipo severo y niveles casi indetectables de Tg: P17, heterocigoto compuesto p.(Arg296Ter)/p.(Gln1796Ter), cada una de las variantes heredada de un progenitor, y P30, homocigoto p.(Gln1796Ter), la madre del cual es portadora de la variante (padre no estudiado). Esta mutación fue descrita por Targovnik *et al.* en un paciente con HC y bocio. Estos autores refieren que las consecuencias funcionales de esta mutación podrían ser la eliminación de la región acetilcolinesterasa y del dominio hormogénico carboxi-terminal²¹³, de ahí el fenotipo severo de estos dos pacientes (P17 presenta, además de esta variante, la variante p.(Arg296Ter) que ya hemos comentado anteriormente).

La variante p.(Arg1530Ter) localizada en el exón 22, presente en el P23, heterocigoto compuesto p.(Arg296Ter)/p.(Arg1530Ter), predice un codón de terminación que da lugar a una proteína truncada de 1529 aminoácidos. Sin embargo, varios autores han demostrado que esta mutación no está presente en la mayoría de los transcritos de mRNA de TG, porque a este mRNA le faltan los 171 nucleótidos correspondientes al exón 22. Esta omisión del exón 22 en el pre-mRNA reestablece el marco de lectura permitiendo llegar al codón de stop normal. Este *splicing* alternativo también está presente en el tejido tiroideo normal, pero representa una proporción muy pequeña del total de transcritos de TG. Sin embargo, en el caso de mutaciones *nonsense*, existe una producción preferencial del transcrito pequeño mediante este *splicing* alternativo. Los autores refieren que las consecuencias funcionales de la delección del exón 22 serían cambios estructurales de la proteína que alterarían su plegamiento y ensamblaje, reduciendo la capacidad de exportar la proteína fuera del retículo endoplasmático. También hipotetizan que la eliminación de exones que contienen secuencias repetitivas mediante *splicing* alternativo o erróneo podría dar lugar a una capacidad alterada de transferir el grupo yodofenoxil al lugar aceptor y así alterar la unión de las yodotirosinas. Además, el exón 22 contiene un residuo tirosínico que podría estar implicado en la hormonogénesis^{214,215}. De manera que podemos concluir que la presencia de esta variante junto con la variante p.(Arg296Ter), comentada anteriormente, configuran un fenotipo severo con cifras muy bajas de Tg en este paciente.

En el P18 se han encontrado las variantes p.(Arg296Ter)/p.(Tyr382ThrfsTer20) en heterocigosis compuesta, heredadas cada una de ellas de un progenitor. Esta última variante predice un codón de terminación prematuro que da lugar a una proteína truncada de solo 381 aminoácidos sin el dominio hormogénico carboxi-terminal. Caron *et al.*, describieron esta mutación en un paciente con HC bociógeno de carácter grave con cifras muy bajas de Tg, el genotipo del cual era p.(Tyr382ThrfsTer20)/p.(Arg2223His), ambas variantes en el gen TG²¹⁶. Esta variante se clasifica

como patogénica según los criterios de la ACMG. Nuestro paciente presenta un HC de carácter severo con cifras casi indetectables de Tg, por lo que nuestros resultados apoyarían la patogenicidad de esta variante.

El P26 y el P27 son dos hermanos con las variantes en heterocigosis compuesta p.(Arg296Ter), heredada por vía materna, y p.(Gly2414Arg), heredada por vía paterna, esta última no descrita previamente en la literatura. Esta variante *missense* se clasifica como VUS según los criterios de la ACMG y se localiza en el exón 42. Otras variantes *missense* que, como ésta, se localizan en el dominio acetilcolinesterasa, se han asociado a HC²¹⁷, por lo que es muy probable que esta variante nueva contribuya al fenotipo severo que presentan estos dos pacientes, aunque sería necesario realizar estudios funcionales *in vitro* para determinar su patogenicidad.

El P35, con un fenotipo permanente severo, es portador de las variantes p.(Arg296Ter) y p.(Cys1264Gly) en heterocigosis compuesta, cada una de ellas heredada de un progenitor. Esta última variante no ha sido descrita previamente, pero en la misma posición sí se ha descrito la variante p.(Cys1264Arg) (arginina en lugar de la glicina del paciente P35 en la misma posición), que se asocia a HC con problemas de transporte de una Tg que queda retenida en el retículo endoplasmático. Además, los autores también demostraron en su trabajo que los defectos de transporte de Tg generan un incremento en la actividad de la enzima desyodasa 2 (D2) y concluyen que ésta sería la causa por la que la mayoría de pacientes con defectos en el transporte de la Tg presentan unos niveles desproporcionadamente altos de FT3 respecto a unos niveles muy bajos de FT4²¹⁸. Es probable, aunque se deberían realizar estudios funcionales, que la variante p.(Cys1264Gly) del paciente P35 tenga unos efectos funcionales muy similares a p.(Cys1264Arg), al estar afectado el mismo aminoácido cisteína en posición 1264. Según los criterios de la ACMG, esta variante se clasifica como probablemente patogénica.

En el P37 la variante p.(Arg296Ter), heredada de la madre, se encuentra en heterocigosis compuesta con la variante p.(Arg445Ter), heredada del padre. Esta última variante no está descrita previamente en la literatura, se localiza en el exón 9 y, según la ACMG, se clasifica como patogénica. Esta variante *nonsense* se encuentra en una posición muy conservada. Estudios en animales han demostrado que mutaciones *nonsense* en el exón 9 producen de manera preferencial, mediante *splicing* alternativo, transcritos más pequeños a los que les falta este exón, produciendo proteínas Tg anómalas²¹⁹. Estas dos variantes justificarían el fenotipo permanente (según dosis predictora) de este paciente. La madre del paciente, portadora de la variante p.(Arg296Ter), presentó un hipotiroidismo gestacional, probablemente no relacionado con la afectación del gen *TG*.

El P24 y el P25 son dos hermanos portadores de las variantes p.(Arg451Ter) y p.(Cys1281Tyr) en heterocigosis compuesta, ambas ya descritas previamente. La primera, localizada en el exón 9, se clasifica como patogénica y está descrita en pacientes con HC severo^{206,220}. La segunda, una variante *missense* que da lugar a un cambio de cisteína por tirosina en el exón 17, también está descrita en pacientes con HC grave²²¹, aunque se clasifica como VUS según criterio de la ACMG, probablemente debido a que no se han realizado aún estudios funcionales *in vitro* que demuestren la patogenicidad de esta variante.

El P19 es portador de la variante p.(Glu165Ter) y la variante intrónica c.5041+46C>T, ambas no descritas previamente en la literatura. Los predictores de *splicing* consultados predicen que la variante intrónica produciría con alta probabilidad la aparición de una nueva posición donadora que podría modificar la secuencia de la proteína. Este paciente presenta un hipotiroidismo leve al diagnóstico y en la reevaluación, con unas cifras normales de Tg. Actualmente este paciente tiene 6 años y precisa unas dosis de LT4 muy bajas, por lo que probablemente se trate de un HC transitorio. El estudio de cosegregación ha demostrado que estas dos variantes son heredadas de su madre y que, por lo tanto, están en *cis*. Este hecho nos confirma que, dada la recesividad de esta patología, el genotipo de este paciente es compatible con su fenotipo. Además, este paciente presenta también una variante en el gen *IYD*, no descrita previamente y clasificada como VUS según la ACMG, que no parece influir sobre su fenotipo clínico.

En el P20, las dos variantes p.(Tyr2617Ter) y p.(Cys2715Ser) presentes en heterocigosis compuesta y ambas no descritas previamente, clasificadas como probablemente patogénica y VUS respectivamente, sí que generan un fenotipo grave en el paciente, con unas cifras muy bajas de Tg (0.3 ng/mL). Cada una de las variantes se ha heredado de un progenitor. Estas variantes se localizan en los exones 45 y 47, en el dominio acetilcolinesterasa. Estos exones codifican hélices que están involucradas en la homodimerización de la proteína, por lo que este mecanismo podría ser defectuoso en estas variantes y así, quedar la proteína retenida en el retículo endoplasmático^{16,222}. Además, en este paciente hemos detectado una variante en heterocigosis en *DUOX2*, heredada por vía paterna, que podría contribuir en su fenotipo grave.

La variante intrónica c.5976-1G>A, afecta a un lugar donador de *splicing* del exón 33 del transcrito canónico. Esta variante no está descrita en la literatura, y los predictores de *splicing* predicen con alta probabilidad la desaparición de la posición donadora de *splicing* del exón 33, lo que podría suponer una omisión del exón y, por lo tanto, modificar la secuencia de la proteína resultante. Aunque serían necesarios estudios adicionales con el RNA del paciente para comprobar si se genera un RNA alternativo, esta variante está clasificada como patogénica según criterios de la ACMG. Esta

variante se encuentra en el P38, que presenta un fenotipo de HC permanente según las dosis de LT4, con unos niveles de Tg de 0.2 ng/mL. Este paciente, además, presenta la variante *missense* p.(Ala2410Pro) en *TG*, no descrita previamente, localizada en el exón 41, que podría afectar al transporte de Tg, ya que se encuentra en la zona del dominio acetilcolinesterasa.

Las mutaciones en el gen *TG* se heredan de forma autosómica recesiva y los individuos afectados son homocigotos o heterocigotos compuestos para dichas mutaciones^{171,208,217}. En nuestra serie, de los 18 pacientes con dos variantes en *TG* (17 heterocigotos compuestos, 1 homocigoto), se ha realizado estudio de cosegregación en 12 de ellos. Hemos podido demostrar que en 11 de ellos las variantes son heredadas una de cada progenitor, es decir, están en *trans* y justifican el fenotipo del paciente y solo en uno (P19), ya comentado anteriormente, están en *cis*, es decir, las dos se encuentran en el mismo alelo. En los 6 pacientes restantes no se ha podido realizar el estudio familiar.

En el estudio realizado por Siffo *et al.*, encontraron que 4 familias presentaban mutaciones en un solo alelo, incluso después de secuenciar todas las regiones exónicas, promotoras y las zonas intrónicas adyacentes a los exones del gen *TG*. En estas 4 familias, estas mutaciones eran del tipo *nonsense*, p.(Arg296Ter) en dos de ellas que, como hemos comentado anteriormente, es la que se encuentra con mayor frecuencia en nuestros pacientes. Los autores refieren que se podría pensar que estos pacientes estarían afectados por un mecanismo de haploinsuficiencia en un contexto de herencia recesiva. Sin embargo, reconocen que probablemente la ausencia de una segunda mutación se puede explicar por limitaciones técnicas de secuenciación directa, que no permite excluir microdeleciones o mutaciones en regiones reguladoras o intrónicas lejanas. Además, también contemplan la posibilidad de que existan mutaciones adicionales en otros genes, es decir, que se trate de una herencia oligogénica²¹⁷. En la serie publicada por Nicholas *et al.*, también se reportaron pacientes con mutaciones monoalélicas en *TG*, llegando estos autores a la misma conclusión que los anteriores²⁰⁶.

Los pacientes con variantes monoalélicas en *TG* de nuestra serie (P21, P34, P36) presentan un hipotiroidismo leve al debut con cifras normales de Tg. El P34, que ha sido reevaluado, presenta un HC permanente leve, pero la dosis de LT4 que precisa a la edad de 7 años indica que probablemente se trate de un HC transitorio. Los otros dos pacientes perdieron el seguimiento. El P36 tiene el antecedente de un hermano con HC transitorio y, su madre, que es portadora de la variante encontrada en su hijo, presentó un hipotiroidismo gestacional, hecho que nos hace pensar que la causa del HC de sus dos hijos es el paso de anticuerpos maternos. El P47, que es portador de 2 variantes heterocigotas en dos genes distintos, en *TG* y en *TPO*, presenta un HC que no requiere tratamiento sustitutivo en la actualidad. El P28, portador de 2 variantes heterocigotas en dos genes

distintos, en *TG* y *DUOX2*, presenta unas cifras significativamente elevadas de Tg al debut (1073 ng/mL) con una disfunción tiroidea leve. No hemos podido seguir la evolución de este paciente, pero es probable que, por las cifras de Tg al diagnóstico, la disfunción tiroidea que pueda presentar esté más relacionada con la variante monoalélica en *DUOX2* que no con la variante en *TG*.

Con esto podemos concluir que, en nuestra serie, no hay ningún paciente en el que podamos relacionar su fenotipo clínico con mutaciones monoalélicas en *TG* y que, por lo tanto, nuestros casos siguen la herencia autosómica recesiva descrita para este gen.

2.3. PACIENTES CON VARIANTES EN *TPO*

Un 15.7% del total de pacientes de nuestra serie presentan variantes genéticas en *TPO*. Este gen es, junto con *DUOX2*, el más frecuentemente afectado después del gen *TG* en nuestros pacientes.

Diversos estudios demuestran que la incidencia de HC por mutaciones en *TPO* es más elevada en la población caucásica que en otros grupos étnicos. En población holandesa, se ha reportado una incidencia de HC por *TPO* de 1:66 000, en la eslovaca, de 1:20 000 y en la japonesa, en cambio, de 1:177 000²²³⁻²²⁵. Un estudio realizado en Portugal en un grupo de pacientes con sospecha de DT (n=55) detectó la presencia de mutaciones en *TPO* en el 24% de ellos²²⁶ y otro realizado en población de la zona balcánica, en un 46% de los 43 pacientes estudiados²²⁴. Cabe destacar, sin embargo, que en ambos estudios se excluyeron a los pacientes con cifras bajas de Tg, por lo que los niños con mutaciones en el gen *TG* no se incluyeron en sus grupos. Este hecho hace posible que la frecuencia real de mutaciones en *TPO* causantes de HC de estos estudios sea, cuando menos, más cercana a la de nuestra serie.

Por lo que se refiere a la gravedad del hipotiroidismo, los pacientes con afectación de este gen, son los que presentan un grado de disfunción tiroidea más severo, ya que un 66% de los pacientes presenta niveles de FT4 al diagnóstico menores de 0.4 ng/dL y es el grupo de pacientes con requerimientos de LT4 más elevados de toda la serie (superiores a 4 mcg/kg/día en todas las edades estudiadas). En un estudio realizado en Holanda en el que se incluyeron 45 pacientes con déficit total de la organificación del yodo y mutaciones en *TPO*, se describe también un grado de hipotiroidismo grave, con niveles medios de TSH de 703 mU/L, de FT4 de 0.2 ng/dL y de Tg de 2726 ng/mL²²³. En nuestra serie, todos los pacientes reevaluados presentan un hipotiroidismo de carácter permanente y los no reevaluados, precisan unas dosis de LT4 sugestivas también de HC permanente.

En referencia al grado de severidad, vemos que los pacientes con mutaciones en *TPO* presentan un hipotiroidismo más grave que los pacientes con mutaciones en *DUOX2*. Sería lógico pensar que, dado que *DUOX2* es el principal suministrador de H_2O_2 necesario para la organificación del yodo, la afectación de este gen ocasionara un hipotiroidismo de una gravedad similar. Sin embargo, la diferencia entre los dos genes está en que en el caso de *DUOX2*, existe un mecanismo compensatorio a través de *DUOX1*, el cual se ha demostrado *in vitro* que también es capaz de generar H_2O_2 ^{122,227}. Sin embargo, *TPO* no dispone de ningún mecanismo compensatorio para equilibrar su función en el proceso de la organificación y, además, interviene en la unión de las yodotirosinas para formar T3 y T4. Por lo tanto, es muy probable que las mutaciones en *TPO* generen un hipotiroidismo de carácter más severo que el causado por mutaciones en *DUOX2* por el hecho de que la función de *TPO* es irremplazable.

Los pacientes P48 y P49 son hermanos, y presentan, en heterocigosis compuesta, la variante p.(Cys808Arg), heredada de la madre, y la variante intrónica c.2387-67G>A, heredada del padre. La primera variante, p.(Cys808Arg), se clasifica como patogénica según los criterios de la ACMG y está localizada en el exón 14. Este exón es el responsable de codificar la zona con similitud al EGF del ectodominio (*EGF-like domain*)^{136,139}. Belforte *et al.*, publicaron en 2014 estudios funcionales de esta variante²²⁸, que se había descrito con anterioridad por el mismo grupo de autores²²⁹. Estos autores demostraron que la variante p.(Cys808Arg) genera una disminución muy significativa de la actividad enzimática, así como una muy baja afinidad por su sustrato. Los autores remarcan que esta variante, que está fuera del dominio catalítico de la proteína, presenta un efecto deletéreo mayor a lo esperado. En el dominio EFG se hallan 6 residuos cisteína que forman 3 puentes disulfuro que se ha demostrado que son esenciales para conservar la estructura proteica (C800-C814, C808-C823 y C825-C838). Los autores exponen que el impacto a nivel funcional de la variante p.(Cys808Arg) puede ser debido a la alteración del puente C808-C823, que generaría cambios conformacionales importantes en la proteína que podrían bien retenerla en el retículo endoplasmático o bien localizarla en la membrana pero con baja actividad enzimática²²⁸. Los autores que describieron por primera vez esta variante, la encontraron en heterocigosis en un paciente con HC, bocio y déficit parcial de la organificación, refiriendo que probablemente existieran en este paciente otras variantes en *TPO* localizadas en zonas no analizadas, como los intrones, ya que la herencia de este trastorno es recesiva²²⁹. En nuestros pacientes, que presentan un HC de carácter severo con un déficit total de la organificación del yodo, además de esta variante, se ha hallado una variante intrónica previamente no descrita y clasificada como VUS y que probablemente contribuya a su fenotipo clínico, aunque para establecer su patogenicidad, sería

necesario estudiar el RNA, ya que los predictores de *splicing* no son del todo concluyentes a la hora de descartar un posible efecto en la proteína.

El P40 es portador en homocigosis de la variante p.(Cys838Ser), que también se encuentra, como la variante p.(Cys808Arg) del párrafo anterior, en una de las regiones esenciales para la conservación de la estructura proteica, en este caso en la región del puente disulfuro C825-C838, por lo que podríamos considerar que la afectación a nivel funcional es igual o muy similar a la que produce la variante p.(Cys808Arg). Este paciente presenta una disfunción tiroidea permanente y grave, con un déficit total de la organificación. La variante p.(Cys838Ser) ha sido descrita en pacientes homocigotos con HC grave en la serie portuguesa de Rodrigues *et al.*²²⁶

El P41 es portador de las variantes p.(Asn160Asp), previamente descrita, y p.(Arg438Cys), no descrita en la literatura, ambas clasificadas como VUS según la ACMG. Cada una de estas variantes es heredada de un progenitor. Este paciente presenta un déficit parcial en la organificación del yodo y es el único caso con variantes en *TPO* con un hipotiroidismo permanente de carácter leve en la reevaluación, por lo que la implicación de ambas variantes a nivel funcional debe ser baja.

El P43 es portador de la variante p.(Cys808AlafsTer24), también en el exón 14. En este caso, dicha variante daría lugar a una proteína truncada con afectación de los dominios catalíticos carboxi-terminales y con pérdida total de la función. La clínica de nuestro paciente y de otros que han sido descritos previamente en la literatura portadores de esta misma variante, apoyan esta hipótesis, ya que todos los casos presentan un HC de carácter severo^{226,230,223}. La otra variante en este paciente, la p.(Asn129LysfsTer80), también daría lugar a una proteína truncada y ha sido descrita en casos de HC con déficit parcial de la organificación²²⁹.

Los exones 7, 8, 9 y 10 del gen *TPO* son los que codifican la región de unión al grupo hemo, el centro catalítico de la proteína²²⁸, que es donde se encuentran la mayoría de las mutaciones descritas en este gen^{9,223}.

El P44 es heterocigoto compuesto para las variantes p.(Val484Met), heredada por vía paterna, y p.(Phe508Ile), heredada por vía materna. Ambas variantes no están previamente descritas en la literatura, se localizan en el exón 9 y causan un fenotipo severo con déficit parcial de la organificación.

En el P47 se ha identificado la variante en heterocigosis simple p.(Arg540Ter), localizada en el exón 10. Esta mutación ha sido analizada a nivel funcional en pacientes homocigotos, en los que se ha demostrado *in vitro* que genera una ausencia total de actividad de la proteína²³¹. Este paciente, además, es portador en heterocigosis de una variante en *TG* clasificada como patogénica según

criterios de la ACMG. Sin embargo, presenta un HC de carácter transitorio con un test de perclorato negativo. Esto demostraría que es necesaria la afectación de los 2 alelos de *TPO* para provocar alteración en la organificación en este paciente.

Respecto a esto último, se han descrito algunos casos de mutaciones monoalélicas en *TPO* con déficits totales de la organificación del yodo. Estos estudios han utilizado técnicas genéticas capaces de confirmar que no existían deleciones grandes en el alelo *wild type* (WT), demostrando que el fenotipo clínico se producía por expresión monoalélica²³² o bien por cosegregación con otro alelo nulo²³³.

El 50% de nuestros pacientes con variantes en *TPO* reevaluados presentan un test de perclorato compatible con un déficit parcial de la organificación del yodo. Aunque habitualmente se asume que las mutaciones inactivadoras en este gen generan un déficit total, nuestra serie y otras publicaciones demuestran que pacientes, probablemente con mutaciones menos severas, pueden presentar déficits parciales²³⁴.

El P42, portador en homocigosis de la variante p.(Arg648Gln), es el paciente con la disfunción tiroidea más grave al diagnóstico, ya que presenta los niveles más elevados de TSH (750 mU/L) y de Tg (3247 ng/mL), con unos niveles de FT4 muy bajos (0.2 ng/dL). Ambos progenitores son portadores de esta variante. Este paciente no está reevaluado, pero en la actualidad tiene 4 años y precisa unas dosis de LT4 de 3.8 mcg/kg/día, altamente sugestivas de HC permanente. Esta variante ha sido descrita en casos de HC grave, en estado heterocigoto compuesto con otras variantes en *TPO*²³⁵. La gravedad descrita en nuestro paciente puede estar influenciada, además, por la presencia de una variante en un segundo gen, en este caso p.(Thr445Met) en *PAX8*, que se clasifica como VUS según los criterios de la ACMG.

El P46, heterocigoto compuesto para las variantes p.(Ala397ProfsTer76), heredada por vía paterna, y p.(Gln660Glu), heredada por vía materna, presenta también un HC de carácter permanente según las dosis requeridas de LT4. La primera de ellas, ha sido descrita en homocigosis en tres miembros de una misma familia que presentaban un déficit parcial en la organificación. Los autores refieren que dicha mutación generaría un *splicing* que daría lugar a una proteína con actividad enzimática residual, hipótesis que confirmaron con el fenotipo clínico de los pacientes de su estudio²³⁶. La variante p.(Gln660Glu) ha sido estudiada *in silico* por Deladoëy *et al.*, quienes demostraron que la proteína mutada tiene una estructura tridimensional normal y se expresa correctamente en la membrana, pero presenta una alteración electroestática alrededor de su lugar catalítico que genera

anomalías de unión en el grupo hemo. Además, dichos cambios electroestáticos tienen también consecuencias en el potencial redox que pueden alterar la oxidación del yodo¹⁷².

El P45, homocigoto para la variante p.(Arg665Trp), presentó un hipotiroidismo muy grave al debut (FT4 0.1 ng/mL) y precisa en la actualidad dosis de LT4 sugestivas de HC permanente. Esta variante ha sido estudiada a nivel funcional por Umeki *et al.*, que han demostrado que esta mutación genera una ausencia de actividad residual de la proteína²³⁷.

El P39 es portador en heterocigosis compuesta de la variante p.(Gly860Arg), heredada del padre, y la variante c.2619-1G>C, heredada de la madre. Esta última es una variante intrónica, previamente no descrita, que previsiblemente hace que desaparezca el lugar aceptor de *splicing* cambiando la composición de la proteína y que se clasifica como probablemente patogénica según la ACMG. La variante p.(Gly860Arg) es una variante que se localiza en el exón 15, afectando la porción transmembrana de la proteína. Es una variante VUS, pero como refieren algunos autores, el cambio de la glicina, que es hidrofóbica, por la arginina, que tiene carga positiva, hace muy probable que la inserción de la proteína en la membrana se vea alterada²²⁴. El fenotipo severo de este paciente confirmaría la relación genotipo-fenotipo de ambas variantes.

Por lo que se refiere al estudio genético en los progenitores, del total de los 10 pacientes con variantes en *TPO*, se ha podido confirmar la cosegregación de la enfermedad en 7 de ellos. El resto de familias no se han podido estudiar. Ninguno de los progenitores portadores presenta disfunción tiroidea. Aun así, aunque las DT por *TPO* siguen un patrón de herencia recesivo, debemos remarcar que la elevada frecuencia de portadores de mutaciones en este gen (1/80) puede dar lugar a una herencia pseudodominante, es decir, con afectación clínica en diversos miembros de una misma familia, simulando un patrón de enfermedad autosómica dominante¹⁷².

2.4. PACIENTES CON VARIANTES EN *DUOX2* Y *DUOX2*

En un 15.7% del total de los pacientes de nuestra serie se encontraron variantes en *DUOX2*, siendo, junto con *TPO*, el segundo gen en frecuencia más afectado en pacientes con DT. En la población asiática, en cambio, este gen es de largo el más afectado en pacientes con sospecha de DT, alcanzando en algunas series hasta el 62.5% de casos^{238,239,240}. En un estudio británico refieren una frecuencia de mutaciones en *DUOX2* del 38%, pero más de la mitad de los pacientes afectados son asiáticos²⁴¹. En nuestra serie, los 3 pacientes de origen asiático presentan variantes en *DUOX2* (n=2) o *DUOX2* (n=1).

Los niveles de FT4 medios al diagnóstico de nuestros pacientes con variantes en *DUOX2* (0.8 ± 0.5 ng/dL) son muy similares a los de otros autores^{26,241,242}. Hemos detectado niveles medios de Tg muy elevados (1371.8 ± 1402 ng/mL), que también se describieron en la serie de Moreno *et al.*¹⁰. Estos niveles elevados de Tg son frecuentes en los pacientes con defectos en la organificación del yodo¹⁸⁷.

Por lo que se refiere a la organificación del yodo, en 2 de nuestros pacientes el test de perclorato fue compatible con un déficit parcial de la organificación (P51 y P53, ambos con variantes bialélicas). En 4 pacientes este test resultó negativo: P58 y P6, que corresponden a pacientes con variantes bialélicas y P50 y P56, que son pacientes con variantes monoalélicas. Tal y como está descrito en la literatura, los defectos en *DUOX2* pueden provocar o no defectos en la organificación del yodo, que habitualmente son de tipo parcial y, que además, no parecen relacionarse con el fenotipo clínico^{11,243-245}. Aunque los defectos de organificación total por *DUOX2* son poco frecuentes, también se pueden observar, como en un paciente de la serie de Moreno *et al.*, que presentaba una descarga del 100% y que era portador de una variante homocigota en este gen¹⁰.

La variante c.2895_2898del, p.(Phe966SerfsTer29) es la más frecuente en nuestro grupo de pacientes con variantes en *DUOX2*, ya que se ha encontrado en 5 pacientes (P51, P52, P57, P59 y P60). Se trata de una delección de 4 nucleótidos que predice un cambio en la pauta de lectura, creando un codón de terminación prematuro. Esta variante se describió por primera vez en el 2002 en una serie de Moreno *et al.*, en un paciente que era portador en heterocigosis y que presentaba un HC transitorio con un déficit parcial en la organificación del yodo¹⁰. Muzza *et al.*, publicaron en el 2013 una serie de 28 pacientes con mutaciones en *DUOX2* en la que esta variante resultó ser también la más frecuente (14% de los pacientes). Como en nuestra serie, los casos con esta variante presentaban un fenotipo clínico variable, desde HC permanente en heterocigotos, hasta HC transitorio en heterocigotos compuestos. Estos autores demostraron que esta mutación terminadora provocaba una degradación del mRNA¹¹. De Marco *et al.*, realizaron estudios funcionales de esta variante y demostraron que genera una inhibición completa de la generación de H₂O₂, así como una expresión disminuida de la proteína en la membrana celular²⁴⁶. En nuestra serie, 2 pacientes son homocigotos para p.(Phe966SerfsTer29) y presentan un fenotipo clínico muy distinto: P52 presenta un fenotipo transitorio según la dosis predictora y una FT4 normal al diagnóstico (1.3 ng/dL) y P59 presenta un fenotipo permanente según la dosis predictora y un hipotiroidismo severo al debut (FT4 0.5 ng/dL). En estos dos pacientes (P52 y P59), hemos confirmado a través del estudio familiar, que ambos progenitores son portadores de la variante. Los otros 3 pacientes son heterocigotos compuestos para p.(Phe966SerfsTer29) y otras variantes en *DUOX2*. P51, que presenta un fenotipo permanente leve en la reevaluación, es portador de las

variantes p.(Phe966SerfsTer29), heredada de la madre, y p.(Gln1301Ter), heredada del padre. Esta última variante no está descrita en la literatura y está clasificada como patogénica según la ACMG. P60, portador de las variantes p.(Phe966SerfsTer29), heredada por vía paterna, y p.(Arg354Trp), heredada por vía materna, presenta un hipotiroidismo severo al debut (FT4 0.3 ng/dL) pero un fenotipo transitorio en la reevaluación diagnóstica. La variante p.(Arg354Trp) es una variante descrita en la literatura y clasificada como VUS. Por último, P57, que presenta además de p.(Phe966SerfsTer29), la variante p.(Leu815Pro), no descrita y clasificada como VUS según la ACMG. Este paciente presenta, según la dosis predictora, un fenotipo permanente. El fenotipo clínico de los pacientes portadores de esta variante, es variable y no parece asociarse directamente con el genotipo. Es probable que, como se discutirá a continuación, existan otros factores que modifiquen el fenotipo clínico de los pacientes con variantes en este gen.

En el P55, de origen chino, se ha detectado la variante p.(Lys530Ter), heredada de su madre. Como han demostrado diversos autores, esta variante es una de las más frecuentes en esta población asiática^{238,247}. Este paciente, que además es portador de la variante p.(Arg1110Gln), clasificada como probablemente patogénica según la ACMG, presenta un fenotipo sugestivo de HC permanente según la dosis predictora.

En dos de los pacientes con variantes en *DUOX2* (P50 y P56), estas son monoalélicas, es decir, solo se encuentra una variante en uno de los dos alelos. Estos dos pacientes presentaron una hipertirotropinemia en la reevaluación y actualmente precisan dosis bajas de LT4, por lo que no podemos descartar un HC transitorio si se someten de nuevo a una reevaluación. Una de estas variantes, la p.(Gln202ThrfsTer99), encontrada en el P56, ha sido descrita en la literatura por Pfarr *et al.*, quienes la detectan también en heterocigosis en un neonato con HC (no reevaluado) y en su madre, que presenta una función tiroidea normal²⁴⁵. El padre de nuestro paciente también es portador de la variante y no presenta disfunción tiroidea. El otro paciente (P50), es portador de la variante c.514-49G>A, que corresponde a una variante intrónica previamente no descrita y que se clasifica como VUS. Un dato a destacar de este paciente es que la gammagrafía diagnóstica mostró un patrón con captación ausente (ecografía normal). Este paciente no presenta antecedentes maternos de hipotiroidismo, por lo que la ausencia de captación no debería ser causada, en un principio, por TBAbs. Dicho paciente acudió muy tarde a nuestro centro (40 días de vida) y no podemos descartar la posibilidad de la toma de LT4 en algún momento desde su diagnóstico hasta la visita y que la TSH suprimida sea la causa de una falsa agenesia tiroidea en este caso.

El P28, que es portador de la variante monoalélica en *DUOX2* p.(Ala1131Thr), presentó un hipotiroidismo leve al debut (FT4 0.9 ng/dL, TSH 83.1 mU/L) con niveles muy elevados de Tg (1073

ng/mL) y una gammagrafía hipercaptante. Este paciente era portador, además, de la variante p.(Trp139Ter) en *TG*. Los datos hormonales y gammagráficos al debut nos hacen pensar que la afectación de *DUOX2* es la responsable de la disfunción tiroidea de este paciente. Este paciente perdió el seguimiento clínico, pero al año de vida precisaba una dosis de LT4 sugestiva de HC transitorio.

Diversos autores han asociado variantes monoalélicas en *DUOX2* a HC de carácter transitorio^{10,247}. En referencia a esto último, cabe remarcar que a diferencia de los otros genes causantes de DT de herencia autosómica recesiva (*TG*, *TPO*, *NIS*, *pendrina*), las mutaciones monoalélicas en *DUOX2* son capaces de provocar HC. Estas mutaciones monoalélicas, se asociaron inicialmente a las formas más leves o transitorias de HC por *DUOX2* y, por lo contrario, las bialélicas a formas más graves y a los fenotipos permanentes^{10,124,243,244}. Sin embargo, a medida que se ha ido ampliando el conocimiento de las DT causadas por este gen, se ha demostrado que la variabilidad fenotípica-genotípica es más compleja y que no se relaciona de forma directa con el número de alelos mutados. Son diversos los autores que han publicado series de pacientes con variantes monoalélicas en *DUOX2* con fenotipos graves y de carácter permanente, así como formas bialélicas con HC de carácter transitorio^{11,26,238,248,27}. Estos resultados son comparables a los de nuestra serie en el caso de las variantes bialélicas, ya que 3 de los pacientes con dicho genotipo presentan un HC de carácter transitorio (uno de ellos reevaluado, 2 probables por la dosis de LT4 actual) y, los demás, un HC permanente.

Tal y como hipotetizan estos autores, nosotros también creemos que estos fenotipos variables podrían estar producidos por diversos factores, como son la generación de H₂O₂ por otras enzimas, como *DUOX1*; por otros factores genéticos, como el factor madurativo *DUOXA2*; por diferencias étnicas y por factores ambientales, como la ingesta de yodo. Tampoco se debe descartar la presencia de una variante monoalélica en un alelo y una deleción en el otro, así como variaciones en el número de copias, ya que estas alteraciones solo se podrían detectar utilizando otras técnicas, como *arrays* de hibridación genómica comparativa²⁴⁹ y no con el uso de paneles NGS o secuenciación Sanger.

El estudio genético de los progenitores de 7 pacientes con variantes en homocigosis o heterocigosis compuesta en *DUOX2* ha determinado que cada uno de ellos es portador de una de las 2 variantes presentes en los pacientes, demostrando así la cosegregación de la enfermedad. La madre de P55, que es portadora de la variante patogénica p.(Lys530Ter), presenta un hipotiroidismo subclínico, probablemente causado por la afectación monoalélica de este gen. La madre de P54 presentó un hipotiroidismo gestacional y, el resto de progenitores portadores, son eutiroides.

Uno de los pacientes de nuestra serie (P70) es portador en heterocigosis de la variante p.(Tyr246Ter) en *DUOXA2*. Esta variante fue descrita en homocigosis en un paciente con un HC, con una hipertirotropinemia en la reevaluación y un déficit parcial de la organificación del yodo. Los autores demostraron, mediante estudios *in vitro*, que la proteína truncada no tenía ninguna actividad residual sobre la maduración de *DUOX2* y que su homólogo *DUOXA1* podía compensar de manera parcial esta deficiencia. Según estos autores, esto explicaría porque este paciente presenta un fenotipo más leve que algunos pacientes con mutaciones bialélicas en *DUOX2*¹³. Nuestro paciente presenta un HC de carácter leve al diagnóstico, un test de descarga con perclorato negativo y un HC transitorio en la reevaluación, datos que son compatibles con una afectación monoalélica en este gen.

2.5. PACIENTES CON VARIANTES EN *PAX8*

Un 7.1% del total de los pacientes de nuestra serie presentaron variantes genéticas en *PAX8*. Esta frecuencia es alta si la comparamos con los estudios publicados en la literatura. Sin embargo, la mayoría de estos estudios incluyen solo pacientes con disgenesia tiroidea, ya que es bien conocido el rol de *PAX8* sobre el desarrollo de la glándula. Estas publicaciones reportan una frecuencia de mutaciones en *PAX8* en pacientes con disgenesia tiroidea del 1.4 al 3.3%²⁵⁰⁻²⁵². En algunos estudios donde se incluyen pacientes con HC no disgenético, reportan frecuencias todavía más bajas. Al Taji *et al.*, encontraron una frecuencia de mutaciones en *PAX8* del 1.8% en una serie donde el 35% de los pacientes presentaba glándulas normales y Narumi *et al.*, un 2% en un estudio donde el 49% eran HC no disgenéticos^{253,254}. De los 5 pacientes afectados de nuestra serie, podemos confirmar que no son disgenéticos los 2 casos en los que se realizó una ecografía tiroidea, que mostró una glándula de tamaño normal. En los otros 3 casos, solo disponemos de la gammagrafía tiroidea que, como ya se ha explicado con anterioridad, no es la mejor técnica para medir el tamaño del tiroides. Es por esto que no podemos descartar cierto grado de hipoplasia tiroidea en estos pacientes. Esta alta frecuencia de mutaciones en *PAX8* en nuestro estudio puede ser debida a que en otros estudios realizados en pacientes con DT y GIS, no se incluye de forma sistemática el análisis de este factor de transcripción.

El fenotipo clínico de los pacientes de nuestra serie con variantes genéticas en *PAX8* es altamente variable. Esta variabilidad radica en la severidad del hipotiroidismo y el patrón gammagráfico al diagnóstico, ya que por lo que se refiere a la evolución del hipotiroidismo, todos ellos presentan un fenotipo permanente en la reevaluación.

Esta variabilidad fenotípica ha sido descrita previamente en la literatura. Las mutaciones en este gen causan una afectación tiroidea muy variable, desde diferentes grados de disgenesia glandular hasta hipotiroidismo subclínico con glándula en situación eutópica. Estas diferencias en la presentación clínica de la enfermedad se observan incluso entre los miembros de una misma familia, hecho que dificulta la sospecha diagnóstica de mutaciones en este gen^{252,255,256}. Esta variabilidad fenotípica podría estar causada por diversos factores como penetrancia y expresividad variables y a otros fenómenos como la haploinsuficiencia o el transfondos genético²⁵⁷.

La variante p.(Ser59Arg), encontrada en la paciente P61, se describió en la serie de Park K-J *et al.* en una niña con fenotipo permanente²³⁹. Nuestra paciente presentaba una glándula de tamaño normal y la de estos autores, bocio. En nuestra paciente, además, destacaba un test de descarga con perclorato compatible con un déficit parcial de la organificación del yodo.

Los pacientes P62 y P64, que presentaban una severidad clínica bien diferenciada al diagnóstico, son portadores de la misma variante: p.(Arg133Gln). Esta mutación fue descrita por Narumi *et al.* en una niña con HC y glándula hipoplásica. Estos autores realizaron estudios *in vitro* que les permitieron dilucidar que el mecanismo patogénico de las mutaciones en este gen es la haploinsuficiencia²⁵⁸. Un año más tarde, Hermanns *et al.* describieron esta mutación en una familia con diferentes grados de afectación tiroidea y realizaron estudios funcionales *in vitro* en los que demostraron que la unión de la proteína mutada a las regiones promotoras específicas del DNA estaba conservada. Sin embargo, excluyeron un efecto dominante negativo en la proteína *wild-type*, por lo que dedujeron que el mecanismo patogénico puede residir en defectos estructurales que reducen la capacidad de generar el cambio conformacional después de su unión al DNA. Este cambio estructural consiste en la ganancia de contenido alfa-helicoidal del dominio *paired box*, fenómeno conocido como *induced fit*²⁵⁹. Se ha demostrado que este mecanismo es el causante de la patogenicidad de ciertas mutaciones en el gen *PAX8*²⁶⁰. Sorprendentemente, el paciente P62, presentaba una ausencia total de captación en la gammagrafía practicada antes de iniciar el tratamiento sustitutivo. En presencia de glándula eutópica, este patrón gammagráfico es esperable en las mutaciones en *NIS*, ya que estas causan un déficit de captación de yodo por parte de la glándula tiroidea y así, una ausencia de captación del radiotrazador. Sin embargo, dado que el gen *NIS* requiere la expresión de *PAX8* como promotor para su síntesis, es posible que fallos en este último causen defectos en el transporte del yodo, hecho que también demostraron en su estudio Wakako *et al.*²⁶¹ Sin embargo, nuestro paciente mostró una captación gammagráfica normal en la reevaluación diagnóstica, por lo que se podría deducir que esta alteración depende de varios

factores y podría ser cambiante dependiendo de las necesidades fisiológicas de secreción hormonal.

El paciente P65 es un paciente clasificado como falso positivo, ya que la TSH confirmatoria fue de 5.3 mU/L (TSH de cribado 20 mU/L). Sin embargo, este paciente precisó tratamiento sustitutivo desde los 22 meses de edad por ligeros incrementos en la TSH y, en la reevaluación diagnóstica, se constató un HC de carácter permanente. Este paciente, como el P61, presentó también un test de perclorato compatible con un déficit parcial de la organificación del yodo. La variante p.(Arg133Trp) encontrada en este paciente solo ha sido descrita en la serie de Vincenzi *et al.* en 4 miembros de una misma familia con fenotipos clínicos muy variables, desde hipotiroidismo severo con hipoplasia glandular en el caso índice hasta hipotiroidismo subclínico con nódulos tiroideos en los otros sujetos de la misma familia. Asimismo, los autores analizaron la presencia de esta mutación en 282 alelos de población sana e hipotiroidea, no encontrándose en ninguno de ellos, descartando así la probabilidad de que esta variante se trate de un polimorfismo común. También realizaron un estudio funcional *in vitro* en el que demostraron que dicha mutación no alteraba la activación del promotor del gen *TG*²⁶². Respecto a esto último, se ha demostrado que, en cambio, el gen *TPO* sí que es altamente dependiente de *PAX8*, por lo que la expresión reducida de *TPO* secundaria a alteraciones en *PAX8* podría explicar estos defectos parciales en la organificación del yodo en los 2 pacientes de nuestra serie^{7,166}.

El P63 es portador de una variante nueva, la c.196_198del, p.(Tyr66del) en el exón 4 del gen *PAX8* que no afecta la pauta de lectura pero que provoca un fenotipo clínico severo. Esta variante no ha sido descrita previamente en la literatura ni en las bases de datos poblacionales y patológicas consultadas. Por lo que se refiere a la predicción de patogenicidad *in silico*, según los criterios de la ACMG, esta variante se clasifica como probablemente patogénica.

Recientemente, nuestro grupo ha realizado estudios funcionales *in vitro* en células HEK basados en la actividad transactivadora de *PAX8* sobre el promotor del gen *TG*. Los resultados preliminares de los ensayos del test de la luciferasa indicaron que las variantes p.(Ser59Arg), p.(Tyr66del), p.(Arg133Trp) y p.(Arg133Gln) en *PAX8* encontradas en nuestros pacientes, transactivaron el promotor de *TG*, pero su perfil de actividad transcripcional fue siempre menor al de la proteína WT y que, por lo tanto, todas las variantes se consideran patogénicas y causantes del HC del paciente.

Por lo que se refiere al estudio de cosegregación, hemos podido demostrar en 4 pacientes (P61, P62, P64 y P65) que uno de sus progenitores es portador de la misma mutación. La madre de P65, portadora de la variante de su hijo p.(Arg133Trp), presenta hipotiroidismo subclínico. Los otros

progenitores portadores no presentan ningún grado de disfunción tiroidea. Las mutaciones en *PAX8* representan la causa genética más común de herencia autosómica dominante en pacientes con HC. Aunque en nuestra serie solo uno de los progenitores está afecto, se debería considerar una alteración en este gen siempre que existan antecedentes familiares de HC o tardío no autoinmune, sin olvidar la alta variabilidad fenotípica que puede existir entre los miembros de una misma familia²⁶³.

2.6. PACIENTES CON VARIANTES EN *TSHR*

Solo 4 de los pacientes de nuestra serie presentan mutaciones en *TSHR*. Todos ellos debutaron con un grado leve de hipotiroidismo (TSH 19.9-100 mU/L y FT4 > 1.1 ng/dL).

En el P67 se ha hallado la variante p.(Pro162Ala) en homocigosis y presenta un hipotiroidismo que, aunque no se ha reevaluado, requiere tratamiento a dosis sugestivas de carácter permanente. Esta variante fue descrita en el 1994 en una familia de 5 miembros. De las 3 hermanas, 2 se diagnosticaron al nacer con cifras de TSH de 47 y 96 mU/L con T4 total normal y la otra, que no presentaba signos de hipotiroidismo, a la edad de 4 años gracias al antecedente de su hermana pequeña. Esta última presentaba TSH de 80 mU/L con T4 total normal. Estas niñas eran heterocigotas compuestas para las variantes p.(Pro162Ala), heredada de la madre, y p.(Ile167Asn), heredada del padre. Ambos progenitores presentaban cifras ligeramente elevadas de TSH. Todos los miembros de la familia presentaban un patrón normal de captación en la gammagrafía. Las hermanas presentaron incremento de la TSH al suspender el tratamiento en la reevaluación, pero las dosis que requerían eran inferiores a las habituales. El estudio funcional de estas variantes reveló una actividad reducida en el receptor mutado por p.(Pro162Ala) y una actividad casi nula en el caso de la otra variante²⁶⁴. Esta mutación está localizada en el exón 6, que participa en la codificación del dominio extracelular del TSHR. Costagliola *et al.*, realizaron estudios funcionales y estructurales de esta mutación y encontraron que este cambio afecta la configuración del receptor a nivel de la superficie de la molécula y que su expresión se reduce al doble cuando se compara con la proteína WT. Estos y otros autores concluyen que este cambio genera fenotipos leves, ya que solo genera una menor unión y activación de la TSH a su receptor^{265,266,267}. En una serie de pacientes con hipotiroidismo subclínico se constata esta última suposición, ya que pacientes portadores heterocigotos de esta mutación presentan solo elevaciones ligeras de la TSH²⁶⁸. De Roux *et al.*, publicaron un caso que era homocigoto para esta variante y que presentaba también un fenotipo leve, con solo elevación de TSH y ecografía y gammagrafía normales²⁶⁹. Camilot *et al.*, en cambio,

presentaron el caso de un paciente homocigoto con hipotiroidismo grave, concluyendo que la afectación de ambos alelos genera una inactivación del receptor, tal como sucede en nuestro paciente²⁶⁷. El estudio de cosegregación en nuestro paciente demuestra que ambos progenitores son portadores de la mutación y que su madre, presenta un hipotiroidismo que debutó en la gestación, probablemente influenciado o causado por algún grado de disfunción en el TSHR.

El P68, que es heterocigoto compuesto para las variantes p.(Glu34Lys) y p.(Arg450His), presentó un hipotiroidismo subclínico al diagnóstico, con una glándula hipocaptante. A la edad de 5 años precisa dosis bajas de LT4. La variante p.(Glu34Lys) en heterocigosis se ha encontrado en familias que presentan diferentes grados de hipotiroidismo entre sus miembros, desde subclínico, hasta hipotiroidismo sintomático^{270,271}. Esta variante afecta a la estructura del ectodominio del receptor. De Marco *et al.*, realizaron estudios funcionales de esta variante, que mostraron una disminución en la producción de cAMP. Estos autores concluyen que la variabilidad de fenotipos en pacientes con esta misma mutación (hecho que también ocurre con otras variantes en *TSHR*), puede ser debida a factores como haploinsuficiencia o influencia dominante negativa de los receptores mutados sobre los WT²⁷⁰. La variante p.(Arg450His) es altamente frecuente en la población japonesa, representando el 70% de las variantes en pacientes con HC por afectación de *TSHR*²⁷². Mizuno *et al.*, realizaron análisis funcionales en los que concluyeron que esta variante generaba una resistencia hormonal parcial o totalmente compensada, aun en presencia de mutaciones homocigotas. Estos autores estudiaron la evolución de 5 pacientes homocigotos para esta variante y observaron que, aunque todos ellos presentaban un hipotiroidismo compensado al nacimiento, 1 de ellos presentó niveles de FT4 de 0.6 ng/dL cuando se reevaluó en la adolescencia. Con esto concluyen que, aunque la resistencia a la TSH en el periodo neonatal esté parcial o totalmente compensada, no es posible predecir si la función tiroidea se descompensará en algún momento de la vida²⁷³. En nuestro paciente, portador de dos variantes que pueden generar fenotipos leves y que precisa en la actualidad dosis bajas de LT4, se debería considerar realizar una reevaluación para conocer el grado de afectación en su función tiroidea.

El P69, paciente que perdió el seguimiento clínico desde el momento del debut, es portador en homocigosis de la variante p.(Ala553Thr). De este paciente solo disponemos de los niveles de TSH confirmatoria, que fueron de 100 mU/L y de una ecografía tiroidea, que muestra una glándula hipoplásica. Esta variante, localizada en el exón 10, codifica la zona transmembrana del receptor y genera una importante desestabilización de la proteína. En la literatura se ha descrito en pacientes

afectos de hipoplasia tiroidea grave con ausencia de captación gammagráfica e hipotiroidismo severo^{266,274}.

Hemos detectado dos variantes no descritas previamente en la literatura en el P66, p.(Thr257Ile) y p.(Asn255LysfsTer6), ambas localizadas en el exón 9. La última genera una proteína truncada. El paciente presenta un hipotiroidismo compensado en la reevaluación diagnóstica y precisa tratamiento sustitutivo porque las cifras de TSH se mantienen por encima de 10 mU/L. Estas dos mutaciones provienen del mismo alelo (paterno), pero como hemos visto, mutaciones en heterocigosis en *TSHR* pueden dar lugar a fenotipos leves, por lo que es probable que una o las dos variantes provoquen este grado de afectación en nuestro paciente. El padre del paciente, sin embargo, no presenta disfunción tiroidea. Para saber cual de las dos variantes genera más resistencia a la TSH, se deberían realizar estudios funcionales.

Como hemos visto, el fenotipo clínico de las mutaciones con pérdida de función en *TSHR* dan lugar a distintos grados de resistencia a la TSH, desde hipotiroidismo subclínico a niveles severos de disfunción hormonal con glándulas eutópicas que van desde un tamaño normal hasta distintos grados de hipoplasia tiroidea. En el estudio de Camilot *et al.*, donde se estudiaron mutaciones en *TSHR* en 116 pacientes con hipotiroidismo subclínico no autoinmune (edad media al diagnóstico 7.2±4 años) y 14 neonatos con HC se demostró que la relación del fenotipo clínico guardaba una correlación bastante razonable con el genotipo. Observaron que los sujetos con una sola mutación y afectación parcial del receptor presentaban solo un grado reducido de transducción de la señal mediada por TSH (hipotiroidismo subclínico) y que los pacientes con grados leves de hipotiroidismo, presentaban mutaciones con afectación severa del *TSHR* en un alelo y mutaciones menos graves en el otro alelo²⁶⁷. Sin embargo, como hemos visto en el estudio de Marco *et al.*, una misma mutación en heterocigosis puede dar lugar a fenotipos de muy distinta gravedad en miembros de una misma familia²⁷⁰. En el 2005, el grupo italiano de Calebiro *et al.*, realizó un estudio para esclarecer las bases moleculares para la herencia autosómica dominante de la resistencia a la TSH asociada a mutaciones heterocigotas en *TSHR*. Estos autores revelaron que la interacción física entre el receptor WT y el mutado da lugar a un atrapamiento del receptor WT en el retículo endoplasmático, con la consecuente alteración en la respuesta a la TSH. Esto explicaría el mecanismo por el cual se genera una dominancia negativa en la herencia dominante de este trastorno²⁷⁵. Este fenómeno, junto con otros factores como la haploinsuficiencia, factores externos como el déficit de yodo o mutaciones en otros genes, podrían explicar la variabilidad fenotípica en los pacientes con mutaciones heterocigotas este gen.

3. REEVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

En nuestra serie se ha realizado la reevaluación diagnóstica en un 58.6% de los pacientes y en un total de 29 pacientes no se ha efectuado. En 22 (84.6%) de los casos no reevaluados disponíamos del estudio genético antes de la edad indicada para realizarla, motivo por el cual se decidió mantener el tratamiento sustitutivo dada la elevada probabilidad de que estos pacientes presentaran un hipotiroidismo de carácter permanente. Los resultados obtenidos en nuestro estudio apoyan esta hipótesis, ya que un 91.3% de los pacientes con diagnóstico molecular definitivo reevaluados presentan un hipotiroidismo permanente.

Del total de pacientes reevaluados, un 61% corresponden a hipotiroidismo permanente y un 39% a hipotiroidismo transitorio. Si para orientar el carácter del hipotiroidismo en el grupo de pacientes no reevaluados tomamos como referencia los factores predictivos de nuestro estudio (dosis de LT4 requeridas), 19 de los pacientes no reevaluados cumplen criterios de hipotiroidismo permanente. Esto significa que un 62.8% del total de los pacientes de nuestra serie estaría afecto de hipotiroidismo de carácter permanente, una proporción que se acerca mucho a la obtenida en los pacientes reevaluados. De esta manera, solo un 37.2% de los pacientes presentaría un hipotiroidismo transitorio.

En varios estudios publicados en la literatura, el porcentaje de pacientes con HC transitorio es significativamente más elevado. Messina *et al.*, analizaron los datos de la reevaluación diagnóstica de 125 pacientes con HC y obtuvieron un 36.8% de pacientes con HC transitorio, pero en su serie, un 48.8% de los pacientes correspondían a disgenesias tiroideas. De los 64 pacientes con GIS que incluyeron, un 71.8% eran transitorios, cifra muy superior a la de nuestro estudio²⁷⁶. En otro estudio realizado en población italiana donde se incluyeron 84 casos de HC con GIS, el porcentaje de pacientes con hipotiroidismo transitorio resultó muy elevado, del 65.5%. Los autores refieren que las causas de esta elevada proporción de HC transitorio podrían ser, entre otras, el déficit de yodo leve que afecta la zona de Lombardía, hecho que además genera una elevada incidencia de HC con GIS en esa región (1:1446)⁶⁸. En un estudio realizado en Korea por Park *et al.*, se obtienen unos resultados similares a este último trabajo. Estos autores detectan un 65% de pacientes con HC transitorio en una serie de 100 casos. Los autores atribuyen estos resultados a que su muestra solo incluye pacientes con GIS, concluyendo que dos terceras partes de los pacientes con glándula eutópica no requerirían tratamiento con LT4 de por vida⁸⁶. Sin embargo, un estudio realizado por Cho *et al.* en la misma población unos años antes, detecta solo un 44.7% de pacientes con GIS y HC transitorio²⁷⁷.

Las causas de esta elevada proporción de casos de hipotiroidismo transitorio podría ser debida, por un lado, a que los puntos de corte de la TSH de cribado han ido disminuyendo de manera progresiva y esto ha facilitado la detección de casos más leves y formas transitorias²⁷⁸. Por otro lado, estos casos podrían corresponder a diversas etiologías de hipotiroidismo transitorio que los autores no han estudiado, como la presencia de anticuerpos bloqueantes maternos, madres en tratamiento con fármacos antitiroideos, mutaciones en *DUOX2* o exceso o déficit de yodo, siendo esta última la más frecuente a nivel global²⁴. También cabe destacar que la definición de hipotiroidismo transitorio en la literatura es variable, especialmente el término “hipertirotropinemia”, que puede ser considerado de manera distinta según los autores²⁴. Aunque en alguno de los trabajos mencionados no se especifican con claridad los criterios diagnósticos en la reevaluación, la mayoría de ellos clasifican a los pacientes de la misma manera que en nuestro estudio. En nuestra serie, los 8 pacientes con hipertirotropinemia en la reevaluación (TSH 5-10 mU/L), se han incluido en el grupo de pacientes con HC transitorio. De estos 8 pacientes, 4 de ellos no precisaron tratamiento sustitutivo durante su seguimiento y los otros 4, son candidatos a una nueva reevaluación diagnóstica, ya que precisan dosis de LT4 sugestivas de HC transitorio.

Algunos estudios llegan a unos resultados más similares a los nuestros. Por ejemplo, en el trabajo de Oron *et al.*, la proporción de pacientes con HC transitorio es significativamente más baja que en los estudios previamente mencionados, ya que encuentran solo un 20.2% de pacientes con HC transitorio en una serie de 84 pacientes con GIS. Los autores refieren que la tasa de hipotiroidismo transitorio es más baja que en otras publicaciones porque su estudio no incluye pacientes prematuros¹⁹³. Ünüvar *et al.* también encuentran un porcentaje mayor de pacientes con hipotiroidismo permanente que transitorio, un 54% y 46% respectivamente²⁷⁹. En estos estudios no se ha realizado estudio molecular para detectar mutaciones en genes relacionados con DT. En un estudio realizado en Japón, con el mismo número de pacientes con HC y GIS que en nuestra serie (n=70), la proporción de casos de HC permanente y transitorio fue prácticamente igual a la nuestra (HC permanente 65.7%, HC transitorio 34.3%). Estos autores realizaron estudio genético en solo 21 de los 70 pacientes y encontraron un escaso número de mutaciones (2 *TSHR* y 1 *TPO* en el grupo permanente; 1 *TSHR* en el grupo transitorio). Además, reconocen que solo estudiaron *DUOX2* en 8 de los 24 pacientes con HC transitorio (no especifican resultados) y que es probable que, dada la elevada prevalencia de mutaciones en este gen en su población, algunos pacientes quedaran sin diagnosticar²⁸⁰.

En nuestra serie, un 64.2% de los pacientes presenta mutaciones en genes que pueden justificar su fenotipo clínico (grupo “diagnóstico molecular definitivo”) y, de éstos, un 91.3% presentan un

hipotiroidismo permanente. Además, un 83.4% de los pacientes sin variantes presenta un hipotiroidismo transitorio. Es altamente probable que la elevada proporción de casos de hipotiroidismo permanente en nuestra serie sea debida a la elevada presencia de mutaciones genéticas. Nuestra conclusión es totalmente opuesta a la de Park *et al.*⁸⁶, ya que según nuestros resultados, dos terceras partes de los pacientes con HC y GIS, sí que requerirán tratamiento sustitutivo de por vida. Esta es una de las ventajas de disponer de estudio genético en los pacientes con HC y GIS, ya que es uno de los factores que nos ayuda a orientar desde el inicio la evolución del hipotiroidismo en estos pacientes.

4. FACTORES PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN DEL HIPOTIROIDISMO

Los resultados de este estudio indican que el único parámetro para predecir el fenotipo permanente o transitorio del hipotiroidismo es la dosis de LT4 requerida durante la evolución de la enfermedad.

En nuestro estudio no se han encontrado diferencias significativas en los niveles hormonales en el momento del diagnóstico (TSH, FT4 y Tg) entre el grupo de pacientes con hipotiroidismo permanente y el grupo con hipotiroidismo transitorio. Estos mismos resultados han sido reportados también por otros autores^{68,87,193,280}. En el estudio realizado por Messina *et al.* y Oron *et al.*, donde se incluyeron 64 y 84 pacientes con HC y GIS respectivamente, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de FT4 y TSH iniciales entre ambos grupos^{87,193}. En el estudio de Rabbiosi *et al.*, donde dividieron a los pacientes en 3 grupos (HC permanente, hipertirotropinemia persistente y HC transitorio) se encontró que los niveles de Tg iniciales eran significativamente más elevados en el grupo con HC transitorio y el grupo con hipertirotropinemia, pero no se detectaron diferencias en los niveles de TSH ni FT4. Estos autores explican que las diferencias en Tg pueden ser debidas a incrementos de esta hormona por interferencias transitorias en la hormonogénesis o por defectos en la organificación del yodo⁶⁸. En nuestra serie, por el contrario, los niveles de Tg son más elevados en el grupo con HC permanente (592.4 ng/mL vs 208.8 ng/mL, $p=0.25$), probablemente por la alta frecuencia de pacientes con defectos en la organificación del yodo (*TPO*, *DUOX2*) incluidos en este grupo. En algunos estudios realizados con pacientes con HC y GIS sí que se han encontrado diferencias significativas en los niveles iniciales de TSH entre ambos grupos, siendo más elevados en el grupo de pacientes con HC permanente^{86,88}.

Por lo que se refiere a la gammagrafía realizada en el momento del diagnóstico, tampoco hemos encontrado diferencias significativas en el patrón gammagráfico y el carácter permanente o transitorio del hipotiroidismo. Los mismos resultados se obtuvieron en la serie de Oron *et al.*, donde un 21.1% de los pacientes presentaban GIS con aumento de la captación y un 37.9% GIS con glándula normo o hipocaptante. Estos autores refieren que un alto porcentaje de pacientes con GIS fueron finalmente un HC de carácter permanente. En estos pacientes no se efectuó estudio genético, por lo que probablemente, estos casos correspondían a DT. Además, afirmaron que la evolución clínica tampoco estaba relacionada con el patrón de captación tiroidea, concluyendo que la gammagrafía solo predice con seguridad el carácter permanente del hipotiroidismo cuando se detecta una disgenesia tiroidea¹⁹³.

En nuestro estudio, las dosis de LT4 requeridas en el grupo de pacientes con HC permanente son significativamente más altas que en el grupo con HC transitorio en todas las edades estudiadas: 4.1±1.1 mcg/kg/día vs 3.1±0.8 mcg/kg/día (1 año); 3.8±1.2 mcg/kg/día vs 2.3±0.4 mcg/kg/día (2 años) y 3.3±1 mcg/kg/día vs 1.8±0.4 mcg/kg/día (4 años). Diversos estudios realizados en pacientes con HC y GIS también llegan a la misma conclusión^{88,193,280,279}. En el estudio llevado a cabo por Park *et al.*, las dosis al año y a los 2 años de vida en ambos grupos son bastante similares a las de nuestra serie (4.1 mcg/kg/día vs 3.4 mcg/kg/día al año; 3.9 mcg/kg/día vs 2.7 mcg/kg/día a los 2 años)⁸⁸. En el estudio de Cho *et al.*, las dosis medias en el grupo con HC permanente son más elevadas que en nuestra serie (4.5 y 4.2 mcg/kg/día al año y 2 años respectivamente)⁸⁸. Por lo contrario, en el estudio de Ünüvar *et al.*, las dosis en ambos grupos son ligeramente inferiores a las de nuestro grupo (4 mcg/kg/día vs 2.8 mcg/kg/día al año; 2.9 mcg/kg/día vs 2.1 mcg/kg/día a los 2 años)²⁷⁹.

Por lo que se refiere a la dosis capaz de distinguir entre HC permanente y transitorio, son pocos los estudios publicados en la literatura y, además, algunos de ellos incluyen pacientes con disgenesias tiroideas. La mayoría de autores concluyen que el único factor para diferenciar entre ambos tipos de hipotiroidismo son las dosis de LT4 requeridas. El estudio con más similitud al nuestro, en el que se incluyen 56 pacientes con HC y GIS, concluye que la dosis óptima para orientar el tipo de hipotiroidismo es de 3.25 mcg/kg/día al año o a los 2 años⁸⁸. Nuestros resultados a los 2 años de vida son prácticamente los mismos, siendo la dosis predictora de 3.1 mcg/kg/día a esta edad. Sin embargo, la dosis predictora en nuestro estudio al año de vida es más elevada, de 4 mcg/kg/día. Park *et al.*, concluyen que una dosis de 2.76 mcg/kg/día a los 3 años es el punto de corte óptimo⁸⁸ y Messina *et al.*, refieren que la dosis óptima predictora es de 2.7mcg/kg/día al año y a los 2 años de vida⁸⁷. Las diferencias entre los estudios mencionados pueden deberse a las distintas etiologías del hipotiroidismo con GIS y a la distinta proporción de pacientes incluidos en cada grupo.

5. CASOS FALSOS POSITIVOS

En nuestra serie se han incluido 5 pacientes falsos positivos. Estos casos corresponden a pacientes con un cribado de HC alterado pero que en la confirmación diagnóstica los valores de TSH fueron menores de 10 mU/L.

En 2 de ellos no se pudo realizar el seguimiento clínico (P12 y P21). Estos casos presentaban glándulas con disminución de captación en la gammagrafía. P12 no era portador de ninguna variante y P21 era portador de una variante en heterocigosis en *TG*.

Otro de los pacientes (P5), precisó tratamiento sustitutivo a los 2 meses de edad por incremento de la TSH de 13.8 mU/L, pero en la reevaluación diagnóstica se constató un HC transitorio.

El P22, con 3 variantes en heterocigosis compuesta en *TG*, precisó tratamiento con LT4 por cifras de TSH próximas a 10 mU/L y en la reevaluación diagnóstica se detectó una TSH de 8.2 mU/L con FT4 normal. Actualmente este paciente tiene 4 años y precisa una dosis de LT4 de 1.4 mcg/kg/día.

El P65, el cual ya se ha discutido con anterioridad, es portador de una mutación en *PAX8* y está diagnosticado de HC permanente.

Un estudio realizado en Italia donde se incluyeron 56 pacientes falsos positivos estudió la evolución y las causas de esta hipertirotropinemia neonatal. Estos autores dividieron a los pacientes en 2 grupos según las cifras de TSH en la confirmación diagnóstica: un grupo de 33 pacientes con cifras de TSH dentro de la normalidad y otro grupo de 23 pacientes con cifras de TSH de 5-11.7 mU/L. Se detectaron anomalías en la morfología y el tamaño tiroideo en casi el 20% de estos pacientes: en 2 glándula con aumento de tamaño, en 3 glándula con un lóbulo hipoplásico y en 6 una hemiagenesia tiroidea. La mayoría de estos pacientes pertenecían al grupo con TSH de 5-11.7 mU/L. Además, en un 8.8% de los pacientes se detectaron variantes en *TPO* y en un 31% en *TSHR*. Estos autores detectaron una elevada prevalencia de hipotiroidismo subclínico a los 2.5 años de edad en estos pacientes, llegando hasta el 70% en el grupo de pacientes con TSH 5-11.7 mU/L²⁸¹. Los mismos autores siguieron a estos pacientes hasta los 8-9 años y detectaron que en un 50% de ellos todavía persistían diferentes grados hipotiroidismo subclínico a esta edad²⁸².

Estos resultados indican que una hipertirotropinemia neonatal en pacientes con cribado de HC positivo, puede ser consecuencia de anomalías tiroideas menores. Además, estos defectos, aunque sean menores, pueden causar un hipotiroidismo subclínico persistente que puede requerir tratamiento sustitutivo en periodos de la vida con altas necesidades fisiológicas de hormonas tiroideas. Uno de nuestros pacientes falsos positivos, concretamente el que presentaba los niveles

de TSH más bajos, presentaba un defecto genético (*PAX8*) y un hipotiroidismo permanente. Los otros dos presentaban alteración en el gen de la *TG*, uno de ellos con hipertirotropinemia en la reevaluación diagnóstica. Este hecho y los artículos publicados al respecto, justificarían el estudio etiológico de estos pacientes, ya sea de manera inicial o según su evolución clínica en el tiempo. Además, estos casos precisan de manera inexcusable un control hormonal exhaustivo durante toda la infancia, dada la alta probabilidad de disfunción tiroidea permanente, aunque leve. Sin embargo, se necesitarían más estudios para valorar la posible indicación de estudio genético o morfológico en pacientes con cribado alterado y niveles de TSH confirmatorios por debajo de 10 mU/L.

CONCLUSIONES

1. La aplicación de técnicas de secuenciación masiva en pacientes con HC con GIS pone de manifiesto que el 77.1% de los pacientes de nuestra serie son portadores de variantes genéticas en genes implicados en la biosíntesis de las hormonas tiroideas, por lo que podemos concluir que la dishormonogénesis tiroidea es su principal causa.
2. La gammagrafía tiroidea realizada el día de la primera visita se relaciona con la gravedad del hipotiroidismo al diagnóstico (glándulas hipercaptantes y normocaptantes más severo, glándulas hipocaptantes más leve) pero no es capaz de predecir el carácter permanente o transitorio del hipotiroidismo, por lo que no se considera un parámetro útil para pronosticar la evolución de la enfermedad.
3. El 83.4% de los pacientes con HC y GIS sin variantes genéticas presentan un hipotiroidismo de carácter transitorio. Por el contrario, los casos con un diagnóstico molecular definitivo presentan, en su inmensa mayoría (91.3%), un hipotiroidismo de carácter permanente.
4. La dosis de LT4 requerida durante la evolución de la enfermedad es el único parámetro clínico que permite predecir si el paciente presentará un fenotipo de HC permanente o transitorio.
5. El gen de la *TG* es el más frecuentemente afectado, ya que es la causa del HC en el 32.8% del total de nuestros casos. Los genes *TPO* y *DUOX2* le siguen en frecuencia y representan respectivamente el 15.7% de los casos cada uno de ellos.
6. Las variantes monoalélicas en el gen *TG* no generan fenotipos clínicos severos ni permanentes.
7. Los pacientes con variantes en *TPO* son los que presentan un grado más severo de disfunción tiroidea, presentando en el 100% de los casos hipotiroidismo de carácter permanente.
8. Los defectos de la organificación del yodo provocados por variantes en *TPO* pueden ser de tipo total o parcial.
9. Las variantes monoalélicas en *DUOX2* se asocian a HC transitorio y leve. Las bialélicas se asocian, en su mayoría, a HC permanente, pero también a HC transitorio en algunos pacientes.
10. Los pacientes portadores de variantes en heterocigosis en el gen *PAX8* presentan HC permanente.
11. Hemos constatado, mediante el estudio de los progenitores, que los pacientes con variantes en *PAX8* presentan una alta variabilidad fenotípica entre los miembros de la misma familia.
12. Los pacientes con variantes en *PAX8* pueden presentar defectos parciales en la organificación del yodo.

13. La afectación del gen *TSHR* produce un hipotiroidismo compensado al debut, pero con una evolución al hipotiroidismo permanente según la dosis predictorora en todos nuestros casos.
14. Los pacientes con diagnóstico molecular definitivo y presencia de variantes en otro gen distinto (digénicos), no presentan un fenotipo clínico más severo, salvo 1 paciente con afectación bialélica de *TPO* y una variante en *PAX8*.
15. La presencia de niveles muy elevados de Tg al diagnóstico de confirmación son sugestivos de defectos de la organificación del yodo, con probable afectación de los genes *TPO* o *DUOX2*.
16. La hipertirotropinemia neonatal puede ser causada por defectos en genes relacionados con la DT y generar una disfunción tiroidea leve mantenida en el tiempo o un HC permanente. Por ello se debería considerar, de forma individualizada, el estudio genético en estos pacientes, ya sea al diagnóstico o durante su evolución.
17. La práctica sistemática del estudio de genes relacionados con DT en los pacientes con HC y GIS nos permitiría orientar desde el inicio la evolución de la enfermedad y tomar decisiones sobre la necesidad o el momento de realizar la reevaluación diagnóstica. Así, en los casos sin variantes genéticas y una dosis de LT4 sugestiva de fenotipo transitorio, podríamos realizar una reevaluación más temprana, y en los casos con variantes genéticas y/o dosis sugestiva de fenotipo permanente, podríamos decidir mantener el tratamiento sustitutivo sin necesidad de realizar la reevaluación diagnóstica.
18. Se ha constatado, mediante el estudio de cosegregación familiar, que las variantes son heredadas de los progenitores y no *de novo*. Con este hecho, podemos concluir que el estudio genético en los progenitores de estos pacientes es de utilidad para realizar un diagnóstico y tratamiento precoz en la descendencia futura.
19. Se han hallado un total de 72 variantes distintas, de las cuales 31 son nuevas. Nuestro estudio pone de manifiesto la existencia de un porcentaje significativo de variantes genéticas no descritas en la literatura (43%) que en un futuro próximo serán objeto de estudios funcionales y de expresión de mRNA para confirmar su patogenicidad.
20. Es posible que los pacientes con variantes en heterocigosis puedan ser portadores de otras variantes no detectadas por el panel de genes, ya que este no detecta reordenamientos en regiones no codificantes o microdeleciones en uno o más exones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grütters A, Krude H. Detection and treatment of congenital hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(2):104–13.
2. Rastogi M V., LaFranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5(1):1–22.
3. Ford G, Lafranchi SH. Screening for congenital hypothyroidism: A worldwide view of strategies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014;28(2):175–87.
4. Cassio A, Nicoletti A, Rizzello A, Zazzetta E, Bal M, Baldazzi L. Thyrotropin Receptor Gene : When to Investigate , Clinical Effects , and Treatment. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013;5(Suppl 1):29–39.
5. Persani L, Calebiro D, Cordella D, Weber G, Gelmini G, Libri D, et al. Genetics and phenomics of hypothyroidism due to TSH resistance. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;322(1–2):72–82.
6. Abduljabbar MA, Afifi AM. Congenital hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012 Jan 1;25(1–2).
7. Park SM, Chatterjee VKK. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet.* 2005;42(5):379–89.
8. Spitzweg C, Morris JC. Genetics and Phenomics of Hypothyroidism and Goiter Due to NIS Mutations. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;322:56–63.
9. Ris-stalpers C, Bikker H. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to TPO mutations. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;322(1–2):38–43.
10. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJE, van Trotsenburg ASP, Baas F, de Vijlder JJM, et al. Inactivating Mutations in the Gene for Thyroid Oxidase 2 (THOX2) and Congenital Hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2002;347(2):95–102.
11. Muzza M, Rabbiosi S, Vigone MC, Zamproni I. The Clinical and Molecular Characterization of Patients With Dyshormonogenic Congenital Hypothyroidism Reveals Specific Diagnostic Clues for DUOX2 Defects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:544–53.
12. Liu S, Liu L, Niu X, Lu D, Xia H, Yan S. A Novel Missense Mutation (I26M) in DUOX2 Causing Congenital Goiter Hypothyroidism Impairs NADPH Oxidase Activity but Not Protein Expression. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015:1–5.
13. Zamproni I, Grasberger H, Cortinovic F, Vigone MC, Chiumello G, Mora S, et al. Biallelic inactivation of the dual oxidase maturation factor 2 (DUOX2) gene as a novel cause of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(2):605–10.
14. Huler I, Hermanns P, Nestoris C, Heger S, Refetoff S, Pohlenz J, et al. A Single Copy of the Recently Identified Dual Oxidase Maturation Factor (DUOX2) 1 Gene Produces Only Mild Transient Hypothyroidism in a Patient with a Novel Biallelic DUOX2 Mutation and Monoallelic DUOX1 Deletion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;96:841–5.
15. Targovnik HM, Esperante SA, Rivolta CM. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to thyroglobulin mutations. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;322:44–55.
16. Di Jeso B, Arvan P. Thyroglobulin from molecular and cellular biology to clinical endocrinology. *Endocr Rev.* 2016;37(1):2–36.
17. Gene ID, Jc HM, Toor V. Mutations in the Iodotyrosine Deiodinase Gene and Hypothyroidism Moreno JC, Klootwijk W, Van Toor H, et al (Erasmus Univ, Rotterdam, the Netherlands; et

- al) *N Engl J Med* 358:1811-1818, 2008. 2008;541-3.
18. Iglesias A, García-nimo L, Biochemist C, Juan JAC De, Biochemist C. Towards the pre-clinical diagnosis of hypothyroidism caused by iodotyrosine deiodinase (DEHAL1) defects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014;28(2):151-9.
 19. Bizhanova A, Kopp P. Genetics and phenomics of Pendred syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;322(1-2):83-90.
 20. Twyffels L, Strickaert A, Virreira M, Massart C, Van Sande J, Wauquier C, et al. Anoctamin-1/TMEM16A is the major apical iodide channel of the thyrocyte. *AJP Cell Physiol.* 2014;307(12):C1102-12.
 21. Fernández LP, López-Márquez A, Santisteban P. Thyroid transcription factors in development, differentiation and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11(1):29-42.
 22. De Felice M, Di Lauro R. Thyroid development and its disorders: Genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev.* 2004;25(5):722-46.
 23. Brown S, Bellisario L, Abrams AL, Richman A, Cowger L, Medicine N, et al. Incidence of transient congenital hypothyroidism due to maternal thyrotropin receptor-blocking antibodies in over one million babies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):1447-551.
 24. Parks JS, Lin M, Grosse SD, Hinton CF, Drummond-Borg M, Borgfeld L, et al. The impact of transient hypothyroidism on the increasing rate of congenital hypothyroidism in the United States. *Pediatrics.* 2010;125(Supplement 2):S54-63.
 25. Völzke H. The krakow declaration on iodine: Tasks and responsibilities for prevention programs targeting iodine deficiency disorders. *Eur Thyroid J.* 2018;7(4):201-4.
 26. Young H, Heo S, Kim Y, Kim G, Choi J. High Frequency of DUOX2 Mutations in Transient or Permanent Congenital Hypothyroidism with Eutopic Thyroid Glands. *Horm Res Paediatr.* 2014;736:252-60.
 27. Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, Matsui K, Ota Y, et al. Transient Congenital Hypothyroidism Caused by Biallelic Mutations of the Dual Oxidase 2 Gene in Japanese Patients Detected by a Neonatal Screening Program. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;93:4261-7.
 28. Rodríguez A, Sanz M, Dulín E, Rodríguez-Arno MD, Pediatría E, Pediatría D De, et al. Cribado neonatal en enfermedades endocrinológicas. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2017. 2017;8:47-61.
 29. Rose SR, Brown RS. Updated AAP guidelines on newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics.* 2006;117(6):2290-303.
 30. Léger J, Olivieri A, Donaldson M, Torresani T, Krude H, Van Vliet G, et al. European society for paediatric endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism. *Horm Res Paediatr.* 2014;81(2):80-103.
 31. Mehran L, Khalili D, Yarahmadi S, Amouzegar A, Mojarrad M, Ajang N, et al. Worldwide recall rate in newborn screening programs for congenital hypothyroidism. *Int J Endocrinol Metab.* 2017;15(3).
 32. LaFranchi SH. Newborn screening strategies for congenital hypothyroidism: An update. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(SUPPL. 2):225-33.

33. Corbetta C, Weber G, Cortinovis F, Calebiro D, Passoni A, Vigone MC, et al. A 7-year experience with low blood TSH cutoff levels for neonatal screening reveals an unsuspected frequency of congenital hypothyroidism (CH). *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;71(5):739–45.
34. Mengreli C, Kanaka-Gantenbein C, Girginoudis P, Magiakou MA, Christakopoulou I, Giannoulia-Karantana A, et al. Screening for congenital hypothyroidism: The significance of threshold limit in false-negative results. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(9):4283–90.
35. Lain S, Trumpff C, Grosse SD, Olivieri A, Van Vliet G. Are lower TSH cutoffs in neonatal screening for congenital hypothyroidism warranted? *Eur J Endocrinol*. 2017;177(5):D1–12.
36. Adachi M, Soneda A, Asakura Y, Muroya K, Yamagami Y, Hirahara F. Mass screening of newborns for congenital hypothyroidism of central origin by free thyroxine measurement of blood samples on filter paper. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(5):829–38.
37. Van Tijn DA, De Vijlder JJM, Verbeeten B, Verkerk PH, Vulsma T. Neonatal detection of congenital hypothyroidism of central origin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(6):3350–9.
38. Lanting CI, van Tijn D a, Loeber JG, Vulsma T, de Vijlder JJM, Verkerk PH. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of the use of the thyroxine/thyroxine-binding globulin ratio to detect congenital hypothyroidism of thyroidal and central origin in a neonatal screening program. *Pediatrics*. 2005;116(1):168–73.
39. Boelen A, van Veen M, Verkerk PH, Diependaal G, Loeber G, Elvers B, et al. Measuring free thyroxine levels in neonatal heel-prick samples. *Clin Chim Acta*. 2013;423:51–5.
40. Schoenmakers N, Alatzoglou KS, Chatterjee VK, Dattani MT. Recent advances in central congenital hypothyroidism. *J Endocrinol*. 2015;227(3):R51–71.
41. Braslavsky D, Méndez MV, Prieto L, Keselman A, Enacan R, Gruñeiro-Papendieck L, et al. Pilot Neonatal Screening Program for Central Congenital Hypothyroidism: Evidence of Significant Detection. *Horm Res Paediatr*. 2017;88(3–4):274–80.
42. Soneda A, Adachi M, Muroya K, Asakura Y, Yamagami Y. Overall usefulness of newborn screening for congenital hypothyroidism by using free thyroxine measurement. *Endocr J*. 2014;61(10):1025–30.
43. Ogilvy-Stuart AL. Neonatal thyroid disorders. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2002;87:F165–F171.
44. Cavarzere P, Camilot M, Popa FI, Lauriola S, Teofoli F, Gaudino R, et al. Congenital hypothyroidism with delayed TSH elevation in low-birth-weight infants: Incidence, diagnosis and management. *Eur J Endocrinol*. 2016;175(5):395–402.
45. Larson C, Hermos R DA y col. Risk factors associated with delayed thyrotropin elevations in congenital hypothyroidism. *J Pediatr*. 2003;143(5):587–91.
46. Woo HC, Lizarda A, Tucker R, Mitchell ML, Vohr B, Oh W, 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(4):538–42.
47. Grupo de trabajo de la guía de práctica clínica de hipotiroidismo congénito. *Guía de Práctica Clínica de Hipotiroidismo Congénito*. Santiago de Compostela: Consellería de Sanidad, Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia, avalia-t; 2008.
48. Espada M, Dulin E. Procedimiento para la obtención y recogida 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):81–8.
49. Temboury Molina MC, Rivero Martín MJ, De Juan Ruiz J, Ares Segura S. Enfermedad tiroidea autoinmunitaria materna: repercusión en el recién nacido. *Med Clin (Barc)*. 2015;144(7):297–303.
 50. Connelly KJ, Boston BA, Pearce EN, Sesser D, Snyder D, Braverman LE, et al. Congenital hypothyroidism caused by excess prenatal maternal iodine ingestion. *J Pediatr*. 2012;161(4):760–2.
 51. Grant DB, Smith I, Fuggle PW, Tokar S, Chapple J. Congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: Relationship between biochemical severity and early clinical features. *Arch Dis Child*. 1992;67(1):87–90.
 52. Olivieri A, Stazi MA, Mastroiacovo P, Fazzini C, Medda E, Spagnolo A, et al. A population-based study on the frequency of additional congenital malformations in infants with congenital hypothyroidism: Data from the Italian registry for congenital hypothyroidism (1991-1998). *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(2):557–62.
 53. Van Vliet G, Deladoëy J. Diagnosis, treatment and outcome of congenital hypothyroidism. *Endocr Dev*. 2014;26(table 1):50–9.
 54. Klein R, Haddow J, Faix J, Brown R. Prevalence of thyroid deficiency in pregnant women. *Clin Endocrinol*. 1991;35:41–6.
 55. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T₄, and Thyroid Antibodies in the United States Population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(2):489–99.
 56. Dussault JH, Letarte J, Guyda H, Laberge C. Lack of influence of thyroid antibodies on thyroid function in the newborn infant and on a mass screening program for congenital hypothyroidism. *J Pediatr*. 1980;96(3 PART 1):385–9.
 57. Dussault JH, Fisher DA. Thyroid function in mothers of hypothyroid newborns. *Obstet Gynecol*. 1999;93(1):15–20.
 58. Rovelli R, Vigone MC, Giovanettoni C, Passoni A, Maina L, Corrias A, et al. Newborn of mothers affected by autoimmune thyroiditis: the importance of thyroid function monitoring in the first months of life. *Ital J Pediatr*. 2010;36:24.
 59. Brown RS, Alter CA, Sadeghi-Nejad A. Severe unsuspected maternal hypothyroidism discovered after the diagnosis of thyrotropin receptor-blocking antibody-induced congenital hypothyroidism in the neonate: Failure to recognize and implications to the fetus. *Horm Res Paediatr*. 2015;83(2):132–5.
 60. Keller-Petrot I, Leger J, Sergent-Alaoui A, de Labriolle-Vaylet C. Congenital Hypothyroidism: Role of Nuclear Medicine. *Semin Nucl Med*. 2017;47(2):135–42.
 61. Schoen EJ, Clapp W, To TT, Fireman BH. The Key Role of Newborn Thyroid Scintigraphy With Isotopic Iodide (¹²³I) in Defining and Managing Congenital Hypothyroidism. *Pediatrics*. 2004;114(6):e683–8.
 62. Clerc J, Monpeyssen H, Chevalier A, Amegassi F, Rodrigue D, Leger FA, et al. Scintigraphic imaging of paediatric thyroid dysfunction. *Horm Res*. 2008;70(1):1–13.
 63. Perry RJ, Hollman a S, Wood a M, Donaldson MDC. Ultrasound of the thyroid gland in the

- newborn: normative data. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2002;87(3):F209–11.
64. Marinovic D, Garel C, Czernichow P, Léger J. Ultrasonographic assessment of the ectopic thyroid tissue in children with congenital hypothyroidism. *Pediatr Radiol.* 2004;34(2):109–13.
65. Karakoc-Aydiner E, Turan S, Akpınar I, Dede F, Isgüven P, Adal E, et al. Pitfalls in the diagnosis of thyroid dysgenesis by thyroid ultrasonography and scintigraphy. *Eur J Endocrinol.* 2012;166(1):43–8.
66. Perry RJ, Maroo S, Maclennan AC, Jones JH, Donaldson MDC. Combined ultrasound and isotope scanning is more informative in the diagnosis of congenital hypothyroidism than single scanning. *Arch Dis Child.* 2006;91(12):972–6.
67. Wolff J. Perchlorate and the Thyroid Gland. *Pharmacol Rev.* 1998;50(1):89–105.
68. Rabbiosi S, Vigone MC, Cortinovis F, Zamproni I, Fugazzola L, Persani L, et al. Congenital Hypothyroidism With Eutopic Thyroid Gland: Analysis of Clinical and Biochemical Features at Diagnosis and After Re-Evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):1395–402.
69. Varas S. Fundamentos de las pruebas diagnósticas utilizadas para investigar la etiología del defecto en la función tiroidea. Algoritmos diagnósticos. In: *Química Biológica Patológica.* 2013. p. 60–84.
70. Bongers-Schokking JJ, Koot HM, Wiersma D, Verkerk PH, De Muinck Keizer-Schrama SMPF. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on development in infants with congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2000;136(3):292–7.
71. Boileau P, Bain P, Rives S, Toublanc J-E. Earlier Onset of Treatment or Increment in LT4 Dose in Screened Congenital Hypothyroidism: Which Was the More Important Factor for IQ at 7 Years? *Horm Res Paediatr.* 2004;61(5):228–33.
72. Salerno M, Militerni R, Bravaccio C, Micillo M, Capalbo D, Di MS, et al. Effect of different starting doses of levothyroxine on growth and intellectual outcome at four years of age in congenital hypothyroidism. *Thyroid.* 2002;12(1):45–52.
73. Grozinsky-Glasberg S, Fraser A, Nahshoni E, Weizman A, Leibovici L. Thyroxine-triiodothyronine combination therapy versus thyroxine monotherapy for clinical hypothyroidism: Meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(7):2592–9.
74. Cassio A, Cacciari E, Cicognani A, Damiani G, Missiroli G, Corbelli E, et al. Treatment for congenital hypothyroidism: thyroxine alone or thyroxine plus triiodothyronine? *Pediatrics.* 2003;111(5 Pt 1):1055–60.
75. Conrad SC, Chiu H, Silverman BL. Soy formula complicates management of congenital hypothyroidism. *Arch Dis Child.* 2004;89(1):37–40.
76. Selva KA, Mandel SH, Rien L, Sesser D, Miyahira R, Skeels M, et al. Initial treatment dose of L-thyroxine in congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2002;141(6):786–92.
77. Craven M, Frank GR. Does initial dosing of levothyroxine in infants with congenital hypothyroidism lead to frequent dose adjustments secondary to iatrogenic hyperthyroidism on follow-up? *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2018;31(6):597–600.
78. Rovet JF, Ehrlich RM. Long-term effects of L-thyroxine therapy for congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 1995;126(3):380–6.

79. Bakker B, Kempers MJE, De Vijlder JJM, Van Tijn DA, Wiedijk BM, Van Bruggen M, et al. Dynamics of the plasma concentrations of TSH, FT4 and T3 following thyroxine supplementation in congenital hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57(4):529–37.
80. Fisher DA, Schoen EJ, La Franchi S, Mandel SH, Nelson JC, Carlton EI, et al. The hypothalamic-pituitary-thyroid negative feedback control axis in children with treated congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(8):2722–7.
81. Mayayo E, Labarta JI, Gil MM. Enfermedad tiroidea. *An Pediatría Contin*. 2006;4(6):361–74.
82. Gaudino R, Garel C, Czernichow P, L eger J. Proportion of various types of thyroid disorders among newborns with congenital hypothyroidism and normally located gland: A regional cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62(4):444–8.
83. Tenenbaum-Rakover Y, Grasberger H, Mamanasiri S, Ringkananont U, Montanelli L, Barkoff MS, et al. Loss-of-function mutations in the thyrotropin receptor gene as a major determinant of hyperthyrotropinemia in a consanguineous community. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(5):1706–12.
84. Parazzini C, Baldoli C, Scotti G, Triulzi F. Terminal zones of myelination: MR evaluation of children aged 20-40 months. *Am J Neuroradiol*. 2002;23(10):1669–73.
85. Zdraveska N, Zdravkovska M, Anastasovska V, Sukarova-Angelovska E, Kocova M. Diagnostic re-evaluation of congenital hypothyroidism in Macedonia: predictors for transient or permanent hypothyroidism. *Endocr Connect*. 2018;7(2):278–85.
86. Park IS, Yoon JS, So CH, Lee HS, Hwang JS. Predictors of transient congenital hypothyroidism in children with eutopic thyroid gland. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;22(2):115–8.
87. Messina MF, Aversa T, Salzano G, Zirilli G, Sferlazzas C, De Luca F, et al. Early discrimination between transient and permanent congenital hypothyroidism in children with eutopic gland. *Horm Res Paediatr*. 2015;84(3):159–64.
88. Cho MS, Cho GS, Park SH, Jung MH, Suh BK, Koh DG. Earlier re-evaluation may be possible in pediatric patients with eutopic congenital hypothyroidism requiring lower L-thyroxine doses. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;19(3):141–5.
89. Moreno J, Visser T. New phenotypes in thyroid dysmorphogenesis: Hypothyroidism due to DUOX2 mutations. *Endocr Dev*. 2007;10:99–117.
90. Benvenga S, Tuccari G, Ieni A, Vita R. Thyroid Gland: Anatomy and Physiology. 2nd ed. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier Inc.; 2018. 1-10 p.
91. Carvalho DP, Dupuy C. Thyroid hormone biosynthesis and release. *Mol Cell Endocrinol*. 2017;458:6–15.
92. Pesce L, Kopp P. Iodide transport: implications for health and disease. *Int J Pediatr Endocrinol*. 2014;2014(1):8.
93. Leung A, Pearce EN, Braverman LE. Role of iodine in thyroid physiology. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2010;5(4):593–602.
94. Chung HR. Iodine and thyroid function. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;19(11):8–12.
95. De La Vieja A, Ginter CS, Carrasco N. The Q267E mutation in the sodium/iodide symporter (NIS) causes congenital iodide transport defect (ITD) by decreasing the NIS turnover number. *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 5):677–87.

96. Eng PHK, Cardona GR, Fang SL, Previti M, Alex S, Carrasco N, et al. Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology*. 1999;140(8):3404–10.
97. Smanik PA, Liu Q, Furminger TL, Ryu K, Xing S, Mazzaferri EL, et al. Cloning of the Human Sodium Iodide Symporter. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;345:339–45.
98. Ravera S, Reyna-Neyra A, Ferrandino G, Amzel LM, Carrasco N. The Sodium/Iodide Symporter (NIS): Molecular Physiology and Preclinical and Clinical Applications. *Annu Rev Physiol*. 2017;79(1):261–89.
99. Dohán O, De La Vieja A, Paroder V, Riedel C, Artani M, Reed M, et al. The sodium/iodide symporter (NIS): Characterization, regulation, and medical significance. *Endocr Rev*. 2003;24(1):48–77.
100. Kleinau G, Worth CL, Kreuchwig A, Biebermann H, Marcinkowski P, Scheerer P, et al. Structural-functional features of the thyrotropin receptor: A class A G-protein-coupled receptor at work. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8(APR).
101. Zaballos MA, Garcia B, Santisteban P. G β γ -Dimers Released in Response to Thyrotropin Activate Phosphoinositide 3-Kinase and Regulate Gene Expression in Thyroid Cells. *Mol Endocrinol*. 2008;22(5):1183–99.
102. Ohno M, Zannini M, Levy O, Carrasco N, di Lauro R. The paired-domain transcription factor Pax8 binds to the upstream enhancer of the rat sodium/iodide symporter gene and participates in both thyroid-specific and cyclic-AMP-dependent transcription. *Mol Cell Biol*. 1999;19(3):2051–60.
103. Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. A perspective view of sodium iodide symporter research and its clinical implications. *Eur J Endocrinol*. 2006;155(4):495–512.
104. Riedel C, Levy O, Carrasco N. Post-transcriptional Regulation of the Sodium/Iodide Symporter by Thyrotropin. *J Biol Chem*. 2001;276(24):21458–63.
105. Purtell K, Paroder-Belenitsky M, Reyna-Neyra A, Nicola JP, Koba W, Fine E, et al. The KCNQ1-KCNE2 K⁺ channel is required for adequate thyroid I⁻ uptake. *FASEB J*. 2012;26(8):3252–9.
106. Yoshida A, Hisatome I, Taniguchi S, Sasaki N, Yamamoto Y, Miake J, et al. Mechanism of iodide/chloride exchange by pendrin. *Endocrinology*. 2004;145(9):4301–8.
107. Koop P, Solis JC. Thyroid hormone synthesis. In: FE Wondisford SR, editor. *Clinical management of thyroid disease*. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2009. p. 19–41.
108. Twyffels L, Massart C, Golstein PE, Sande J Van, Dumont JE, Kruys V. Pendrin : the Thyrocyte Apical Membrane Iodide Transporter ? *Cell Physiol Biochem*. 2011;491–6.
109. Fisher SE, Van Bakel I, Lloyd SE, Pearce SHS, Thakker R V., Craig IW. Cloning and characterization of CLCN5, the human kidney chloride channel gene implicated in dent disease (an X-linked hereditary nephrolithiasis). *Genomics*. 1995;29(3):598–606.
110. Van Den Hove MF, Croizet-Berger K, Jouret F, Guggino SE, Guggino WB, Devuyst O, et al. The loss of the chloride channel, ClC-5, delays apical iodide efflux and induces a euthyroid goiter in the mouse thyroid gland. *Endocrinology*. 2006;147(3):1287–96.
111. Senou M, Khalifa C, Thimmesch M, Jouret F, Devuyst O, Col V, et al. A coherent organization of differentiation proteins is required to maintain an appropriate thyroid function in the pendred thyroid. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(8):4021–30.

112. Iosco C, Cosentino C, Sirna L, Romano R, Cursano S, Mongia A, et al. Anoctamin 1 is apically expressed on thyroid follicular cells and contributes to ATP- and calcium-activated iodide efflux. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(3):966–80.
113. Silveira JC, Kopp PA. Pendrin and anoctamin as mediators of apical iodide efflux in thyroid cells. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2015;22(5):374–80.
114. Mendive FM, Rivolta CM, Moya CM, Vassart G, Targovnik HM. Genomic organization of the human thyroglobulin gene: The complete intron-exon structure. *Eur J Endocrinol*. 2001;145(4):485–96.
115. Grasberger H, Ringkananont U, LeFrancois P, Abramowicz M, Vassart G, Refetoff S. Thyroid Transcription Factor 1 Rescues PAX8/p300 Synergism Impaired by a Natural PAX8 Paired Domain Mutation with Dominant Negative Activity. *Mol Endocrinol*. 2005;19(7):1779–91.
116. Xavier ACW, Maciel RMB, Vieira JGH, Dias-da-Silva MR, Martins JRM. Insights into the posttranslational structural heterogeneity of thyroglobulin and its role in the development, diagnosis, and management of benign and malignant thyroid diseases. *Arch Endocrinol Metab*. 2016;60(1):66–75.
117. Belkadi A, Jacques C, Savagner F, Malthiery Y. Phylogenetic analysis of the human thyroglobulin regions. *Thyroid Res*. 2012;5(1):1–12.
118. Ericson LE. Exocytosis and endocytosis in the thyroid follicle cell. *Mol Cell Endocrinol*. 1980;22(198 1).
119. Deme D, Virion A, Hammou NA, Pommier J. NADPH-dependent generation of H₂O₂ in a thyroid particulate fraction requires Ca²⁺. *FEBS Lett*. 1985;186(1):107–10.
120. De Deken X, Wang D, Many MC, Costagliola S, Libert F, Vassart G, et al. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J Biol Chem*. 2000;275(30):23227–33.
121. Dupuy C, Valent A, Noe M, De D, Virion A. Purification of a Novel Flavoprotein Involved in the Thyroid. *J Biol Chem*. 1999;274(52):37265–9.
122. Aycan Z, Cangul H, Muzza M, Bas VN, Fugazzola L, Chatterjee VK, et al. Digenic DUOX1 and DUOX2 mutations in cases with congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(9):3085–90.
123. Ameziane-El-Hassani R, Schlumberger M, Dupuy C. NADPH oxidases: New actors in thyroid cancer? *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(8):485–94.
124. Grasberger H. Defects of thyroidal hydrogen peroxide generation in congenital hypothyroidism. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;322(1–2):99–106.
125. Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(3):181–9.
126. Weber G, Rabbiosi S, Zamproni I, Fugazzola L. Genetic defects of hydrogen peroxide generation in the thyroid gland. *J Endocrinol Invest*. 2013;36(4):261–6.
127. Geiszt M, Witta J, Baffi J, Lekstrom K, Leto TL. Dual oxidases represent novel hydrogen peroxide sources supporting mucosal surface host defense. *FASEB J*. 2003;17(11):1502–4.
128. Morand S, Chaaoui M, Kaniewski J, Dème D, Ohayon R, Noel-Hudson MS, et al. Effect of iodide on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity and Duox2 protein

- expression in isolated porcine thyroid follicles. *Endocrinology*. 2003;144(4):1241–8.
129. Wolff J, Chaikoff IL. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J Biol Chem*. 1948 Jun;174(2):555–64.
 130. Rigutto S, Hoste C, Grasberger H, Milenkovic M, Communi D, Dumont JE, et al. Activation of dual oxidases Duox1 and Duox2: Differential regulation mediated by cAMP-dependent protein kinase and protein kinase C-dependent phosphorylation. *J Biol Chem*. 2009;284(11):6725–34.
 131. Grasberger H, Refetoff S. Identification of the maturation factor for dual oxidase: Evolution of an eukaryotic operon equivalent. *J Biol Chem*. 2006;281(27):18269–72.
 132. Morand S, Ueyama T, Tsujibe S, Saito N, Korzeniowska A, Leto TL. Duox maturation factors form cell surface complexes with Duox affecting the specificity of reactive oxygen species generation. *FASEB J*. 2009;23(4):1205–18.
 133. Grasberger H, De Deken X, Mayo OB, Raad H, Weiss M, Liao X-H, et al. Mice Deficient in Dual Oxidase Maturation Factors Are Severely Hypothyroid. *Mol Endocrinol*. 2012;26(3):481–92.
 134. Taurog A, Dorris ML, Doerge DR. Mechanism of simultaneous iodination and coupling catalyzed by thyroid peroxidase. *Arch Biochem Biophys*. 1996;330(1):24–32.
 135. Ruf J, Carayon P. Structural and functional aspects of thyroid peroxidase. *Arch Biochem Biophys*. 2006;445(2):269–77.
 136. Ferrand M, Le Fourn V, Franc JL. Increasing diversity of human thyroperoxidase generated by alternative splicing: Characterization by molecular cloning of new transcripts with single- and multispliced mRNAs. *J Biol Chem*. 2003;278(6):3793–800.
 137. De Felice M, Postiglione MP, Di Lauro R. Minireview: Thyrotropin receptor signaling in development and differentiation of the thyroid gland: Insights from mouse models and human diseases. *Endocrinology*. 2004;145(9):4062–7.
 138. Uyttersprot N, Pelgrims N, Carrasco N, Gervy C, Maenhaut C, Dumont JE, et al. Moderate doses of iodide in vivo inhibit cell proliferation and the expression of thyroperoxidase and Na⁺/I⁻-symporter mRNAs in dog thyroid. *Mol Cell Endocrinol*. 1997;131(2):195–203.
 139. Le SN, Porebski BT, McCoey J, Fodor J, Riley B, Godlewska M, et al. Modelling of thyroid peroxidase reveals insights into its enzyme function and autoantigenicity. *PLoS One*. 2015;10(12):1–16.
 140. Le Fourn V, Ferrand M, Franc JL. Differential expression of thyroperoxidase mRNA splice variants in human thyroid tumors. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2004;1689(2):134–41.
 141. Fayadat L, Niccoli-Sire P, Lanet J, Franc JL. Role of heme in intracellular trafficking of thyroperoxidase and involvement of H₂O₂ generated at the apical surface of thyroid cells in autocatalytic covalent heme binding. *J Biol Chem*. 1999;274(15):10533–8.
 142. Godlewska M, Góra M, Buckle AM, Porebski BT, Kemp EH, Sutton BJ, et al. A Redundant Role of Human Thyroid Peroxidase Propeptide for Cellular, Enzymatic, and Immunological Activity. *Thyroid*. 2014;24(2):371–82.
 143. Vatner DF, Snikeris J, Popov V, Perry RJ, Rahimi Y, Samuel VT. 3,5 Diiodo-L-Thyronine (T₂) does not prevent hepatic steatosis or insulin resistance in fat-fed sprague dawley rats. *PLoS One*. 2015;10(10):1–16.

144. Friedman JE, Watson JA, Lam DWH, Rokita SE. Iodotyrosine deiodinase is the first mammalian member of the NADH oxidase/flavin reductase superfamily. *J Biol Chem.* 2006;281(5):2812–9.
145. Gnidehou S, Caillou B, Talbot M, Ohayon R, Kaniweski J, Noël Hudson M-S, et al. Iodotyrosine dehalogenase 1 (DEHAL1) is a transmembrane protein involved in the recycling of iodide close to the thyroglobulin iodination site. *FASEB J.* 2004;18(13):1574–6.
146. Afink G, Kulik W, Overmars H, De Randamie J, Veenboer T, Van Cruchten A, et al. Molecular characterization of iodotyrosine dehalogenase deficiency in patients with hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(12):4894–901.
147. Moreno JC, Klootwijk W, van Toor H, Pinto G, D'Alessandro M, Lèger A, et al. Mutations in the Iodotyrosine Deiodinase Gene and Hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2008;358(17):1811–8.
148. Lisi S, Pinchera A, McCluskey RT, Willnow TE, Marcocci C, Vitti P, et al. Preferential Megalin-Mediated Transcytosis of Low-Hormonogenic Thyroglobulin : A Control Mechanism for Thyroid Hormone Release. *Proc Natl Acad Sci United States Am.* 2003;100(25):14858–63.
149. Abdalla SM, Bianco AC. Defending plasma T3 is a biological priority. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;81(5):633–41.
150. Cosmo C Di, Liao X, Dumitrescu AM, Philp NJ, Weiss RE, Refetoff S. Mice deficient in MCT8 reveal a mechanism regulating thyroid hormone secretion. *J Clin Invest.* 2010;120(19):3377–88.
151. Friesema ECH, Ganguly S, Abdalla A, Manning Fox JE, Halestrap AP, Visser TJ. Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter. *J Biol Chem.* 2003;278(41):40128–35.
152. Schwartz CE, Stevenson RE. The MCT8 thyroid hormone transporter and Allan-Herndon-Dudley syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2007;21(2):307–21.
153. Friesema ECH, Grueters PA, Biebermann H, Krude H, Von Moers A, Reeser M, et al. Association between mutations in a thyroid hormone transporter and severe X-linked psychomotor retardation. *Lancet.* 2004;364(9443):1435–7.
154. Vassart G, Dumont JE. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr Rev.* 2014;13(3):596–611.
155. Balucan FS, Morshed SA, Davies TF. Thyroid autoantibodies in pregnancy: Their role, regulation and clinical relevance. *J Thyroid Res.* 2013;182472.
156. Ciullo I, Latif R, Graves P, Davies TF. Functional assessment of the thyrotropin receptor-B subunit. *Endocrinology.* 2003;144(7):3176–81.
157. Van Sande J, Parma J, Tonacchera M, Swillens S, Dumont J, Vassart G. Somatic and germline mutations of the TSH Receptor gene in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(10):2577–85.
158. Fernández LP, López-Márquez A, Martínez ÁM, Gómez-López G, Santisteban P. New Insights into FoxE1 Functions: Identification of Direct FoxE1 Targets in Thyroid Cells. *PLoS One.* 2013;8(5):e62849.
159. Cuesta I, Zaret KS, Santisteban P. The Forkhead Factor FoxE1 Binds to the Thyroperoxidase Promoter during Thyroid Cell Differentiation and Modifies Compacted Chromatin Structure.

- Mol Cell Biol. 2007;27(20):7302–14.
160. Christophe-Hobertus C, Lefort A, Libert F, Christophe D. Functional inactivation of thyroid transcription factor-1 in PCCl3 thyroid cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;358(1):36–45.
 161. Civitareale D, Lonigro R, Sinclair AJ, Lauro R Di. A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO J.* 1989;8(9):2537–42.
 162. Aza-Blanc P, Di Lauro R, Santisteban P. Identification of a cis-regulatory element and a thyroid-specific nuclear factor mediating the hormonal regulation of rat thyroid peroxidase promoter activity. *Mol Endocrinol.* 1993;7(10):1297–306.
 163. Montanelli L, Tonacchera M. Genetics and phenomics of hypothyroidism and thyroid dys- and agenesis due to PAX8 and TTF1 mutations. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;322(1–2):64–71.
 164. Plachov D, Chowdhury K, Walther C, Simon D, Guenet JL, Gruss P. Pax8, a murine paired box gene expressed in the developing excretory system and thyroid gland. *Development.* 1990;110:643–51.
 165. Raman P, Koenig RJ. Pax-8-PPAR- γ 3 fusion protein in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(10):616–23.
 166. Pasca di Magliano M, Di Lauro R, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(24):13144–9.
 167. Damante G, Tell G, Di Lauro R. A unique combination of transcription factors controls differentiation of thyroid cells. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 2001;66:307–56.
 168. Di Palma T, Nitsch R, Mascia A, Nitsch L, Di Lauro R, Zannini M. The paired domain-containing factor Pax8 and the homeodomain-containing factor TTF-1 directly interact and synergistically activate transcription. *J Biol Chem.* 2003;278(5):3395–402.
 169. D’Andrea B, Iacone R, Di Palma T, Nitsch R, Baratta MG, Nitsch L, et al. Functional inactivation of the transcription factor Pax8 through oligomerization chain reaction. *Mol Endocrinol.* 2006;20(8):1810–24.
 170. Christophe-Hobertus C, Christophe D. Human Thyroid Oxidases genes promoter activity in thyrocytes does not appear to be functionally dependent on Thyroid Transcription Factor-1 or Pax8. *Mol Cell Endocrinol.* 2007;264(1–2):157–63.
 171. Targovnik H, Citterio C, Siffo S, Rivolta C. Advances and Perspectives in Genetics of Congenital Thyroid Disorders Associated with Thyroglobulin Gene Mutations. *Open J Biol Sci.* 2016:062–70.
 172. Deladoëy J, Pfarr N, Vuissoz JM, Parma J, Vassart G, Biesterfeld S, et al. Pseudodominant inheritance of goitrous congenital hypothyroidism caused by TPO mutations: Molecular and in silico studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(2):627–33.
 173. Olcese MC, Belforte FS, Citterio CE, Targovnik HM, Rivolta CM. Structures of NIS, TPO, Thyroglobulin, H₂O₂-Generating Enzymes, Pendrin and TSH Receptor. In: *Argentine Treaty of Thyroid.* 2011. p. 1–27.
 174. Eberhardt NL, Grebe SKG, McIver B, Reddi H V. The role of the PAX8/PPAR γ fusion oncogene in the pathogenesis of follicular thyroid cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;321(1):50–6.
 175. Pujol-Borrell R, Álvarez-Sierra D, Jaraquemada D, Marín-Sánchez A, Colobran R. Central Tolerance Mechanisms to TSHR in Graves’ Disease: Contributions to Understand the Genetic

- Association. *Horm Metab Res.* 2018;50(12):863–70.
176. Dehesa EM, Longás AF, Aizpún JIL. Valores de referencia de hormonas tiroideas , tirotropina y tiroglobulina en niños sanos zaragozanos. *An Españoles Pediatr.* 1999;51:361–8.
177. Yu B, Long W, Yang Y, Wang Y, Jiang L, Cai Z, et al. Newborn Screening and Molecular Profile of Congenital Hypothyroidism in a Chinese Population. *Front Genet.* 2018;9:1–7.
178. Sun F, Zhang J, Yang C, Gao G, Zhu W, Han B, et al. The genetic characteristics of congenital hypothyroidism in China by comprehensive screening of 21 candidate genes. *Eur J Endocrinol.* 2018;178(6):623–633.
179. Albert BB, Cutfield WS, Webster D, Carll J, Derraik GB, Jefferies C, et al. Etiology of Increasing Incidence of Congenital Hypothyroidism in New Zealand from 1993–2010. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:3155–60.
180. LaFranchi SH. Hypothyroidism. *Pediatr Clin North Am.* 1979;26(1):33–51.
181. Keshavarzian E, Valipour AA, Maracy MR. The incidence of congenital hypothyroidism and its determinants from 2012 to 2014 in Shadegan, Iran: a case-control study. *Epidemiol Health.* 2016;38:e2016021.
182. Mansour C, Ouarezki Y, Jones J, Fitch M, Smith S, Mason A, et al. Trends in Scottish newborn screening programme for congenital hypothyroidism 1980-2014: Strategies for reducing age at notification after initial and repeat sampling. *Arch Dis Child.* 2017;102(10):936–41.
183. Heather NL, Hofman PL, de Hora M, Carll J, Derraik JGB, Webster D. Evaluation of the revised New Zealand national newborn screening protocol for congenital hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017;86(3):431–7.
184. Saleh DS, Lawrence S, Geraghty MT, Gallego PH, McAssey K, Wherrett DK, et al. Prediction of congenital hypothyroidism based on initial screening thyroid-stimulating-hormone. *BMC Pediatr.* 2016;16(1):1–5.
185. Saba C, Guilmin-Crepon S, Zénaty D, Martinerie L, Paulsen A, Simon D, et al. Early Determinants of Thyroid Function Outcomes in Children with Congenital Hypothyroidism and a Normally Located Thyroid Gland: A Regional Cohort Study. *Thyroid.* 2018;28(8):959–67.
186. Lucas-Herald A, Jones J, Attaie M, Maroo S, Neumann D, Bradley T, et al. Diagnostic and predictive value of ultrasound and isotope thyroid scanning, alone and in combination, in infants referred with thyroid-stimulating hormone elevation on newborn screening. *J Pediatr.* 2014;164(4):846–54.
187. Gons M, Kok J, Tegelaers W, de Vijlder JJM. Concentration of plasma thyroglobulin and urinary excretion of iodinated material in the diagnosis of thyroid disorders in congenital hypothyroidism. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1983;104:27–34.
188. Heinze HJ, Shulman DI, Diamond FB, Bercu BB. Spectrum of serum thyroglobulin elevation in congenital thyroid disorders. *Thyroid.* 1993;3(1):37–40.
189. Yun-Woo C, Dong Hwan L, Hong YH, Al E. Congenital Hypothyroidism : Analysis of Discordant US and Scintigraphic Findings. *Pediatr Imaging.* 2011;258(3):872–879.
190. Marino M, Mc Cluskey RT. Role of thyroglobulin endocytic pathways in the control of thyroid hormone release. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2000;279:1295–306.

191. Pokrovska T, Jones J, Guftar Shaikh M, Smith S, Donaldson MDC. How well does the capillary thyroid-stimulating hormone test for newborn thyroid screening predict the venous free thyroxine level? *Arch Dis Child*. 2016;101(6):539–45.
192. Rather TA, Khan SH, Masoodi S, Alai MS. Thyroid dysmorphogenesis and associated non-thyroidal anomalies in a tertiary care hospital in India. *Horm Res Paediatr*. 2014;81(5):314–8.
193. Oron T, Lazar L, Ben-Yishai S, Tenenbaum A, Yackobovitch-Gavan M, Meyerovitch J, et al. Permanent vs transient congenital hypothyroidism: Assessment of predictive variables. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(12):4428–36.
194. De Silva A, Jong I, McLean G, Bergman P, Rodda C, Brown J, et al. The role of scintigraphy and ultrasound in the imaging of neonatal hypothyroidism: 5-year retrospective review of single-centre experience. *J Med Imaging Radiat Oncol*. 2014;58(4):422–30.
195. Tuhan H, Abaci A, Cicek G, Anik A, Catli G, Demir K, et al. Levothyroxine replacement in primary congenital hypothyroidism: The higher the initial dose the higher the rate of overtreatment. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2016;29(2):133–8.
196. Vaidyanathan P, Pathak M, Kaplowitz PB. In congenital hypothyroidism, an initial L-thyroxine dose of 10-12 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ is sufficient and sometimes excessive based on thyroid tests 1 month later. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25(9–10):849–52.
197. Dimitropoulos A, Molinari L, Etter K, Torresani T, Lang-Muritano M, Jenni OG, et al. Children with congenital hypothyroidism: Long-term intellectual outcome after early high-dose treatment. *Pediatr Res*. 2009;65(2):242–8.
198. Kanike N, Davis A, Shekhawat PS. Transient hypothyroidism in the newborn: To treat or not to treat. *Transl Pediatr*. 2017;6(4):349–50.
199. Brown RS. Autoimmune thyroiditis in childhood. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2013;5(SUPPL.1):45–9.
200. Feingold SB, Smith J, Houtz J, Popovsky E, Brown RS. Prevalence and functional significance of thyrotropin receptor blocking antibodies in children and adolescents with chronic lymphocytic thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(12):4742–8.
201. Evans C, Gregory JW, Barton J, Bidder C, Gibbs J, Pryce R, et al. Transient congenital hypothyroidism due to thyroid-stimulating hormone receptor blocking antibodies: A case series. *Ann Clin Biochem*. 2011;48(4):386–90.
202. Ajjan RA, Weetman AP. Techniques to quantify TSH receptor antibodies. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008;4(8):461–8.
203. Xie J, Pannain S, Pohlenz J, Weiss RE, Moltz K, Morlot M, et al. Resistance to thyrotropin (TSH) in three families is not associated with mutations in the TSH receptor or TSH. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):3933–40.
204. Takeshita A, Nagayama Y, Yamashita S, Takamatsu J, Ohsawa N, Maesaka H, et al. Sequence analysis of the thyrotropin (TSH) receptor gene in congenital primary hypothyroidism associated with TSH unresponsiveness. *Thyroid*. 1994;4(3):255–9.
205. Nogueira CR, Nguyen LQ, Coelho-Neto JR, Arseven OK, Jameson JL, Kopp P, et al. Structural analysis of the thyrotropin receptor in four patients with congenital hypothyroidism due to thyroid hypoplasia. *Thyroid*. 1999;9(6):523–9.

206. Nicholas AK, Serra EG, Cangul H, Alyaarubi S, Ullah I, Schoenmakers E, et al. Comprehensive screening of eight known causative genes in congenital hypothyroidism with gland-in-situ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(12):4521–31.
207. Hishinuma A, Fukata S, Nishiyama S, Nishi Y, Oh-Ishi M, Murata Y, et al. Haplotype analysis reveals founder effects of thyroglobulin gene mutations C1058R and C1977S in Japan. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(8):3100–4.
208. Targovnik HM, Citterio CE, Rivolta CM. Thyroglobulin gene mutations in congenital hypothyroidism. *Horm Res Paediatr.* 2011;75(5):311–21.
209. Rivolta CM, Moya CM, Gutnisky VJ, Varela V, Miralles-García JM, González-Sarmiento R, et al. A new case of congenital goiter with hypothyroidism caused by a homozygous p.R277X mutation in the exon 7 of the thyroglobulin gene: A mutational hot spot could explain the recurrence of this mutation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3766–70.
210. Hu X, Chen R, Fu C, Fan X, Wang J, Qian J, et al. Thyroglobulin gene mutations in Chinese patients with congenital hypothyroidism. *Mol Cell Endocrinol.* 2016;423:60–6.
211. Pardo V, Vono-Toniolo J, Rubio IGS, Knobel M, Possato RF, Targovnik HM, et al. The p.A2215D thyroglobulin gene mutation leads to deficient synthesis and secretion of the mutated protein and congenital hypothyroidism with wide phenotype variation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(8):2938–44.
212. Peteiro-Gonzalez D, Lee J, Rodriguez-Fontan J, Castro-Piedras I, Cameselle-Teijeiro J, Beiras A, et al. New insights into thyroglobulin pathophysiology revealed by the study of a family with congenital goiter. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(7):3522–6.
213. Targovnik HM, Souchon PF, Machiavelli GA, Salmon-Musial AS, Mauran PLA, Sulmont V, et al. Congenital goitre with hypothyroidism caused by a novel compound heterozygous mutations in the thyroglobulin gene. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(5):716.
214. Gutnisky VJ, Moya CM, Rivolta CM, Domené S, Varela V, Toniolo J V., et al. Two Distinct Compound Heterozygous Constellations (R277X/IVS34-1G) C and R277X/R1511X) in the Thyroglobulin (TG) Gene in Affected Individuals of a Brazilian Kindred with Congenital Goiter and Defective TG Synthesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):646–57.
215. Targovnik M, Wajchenberg L, Investigacti L De, Genktique S De, Libre U. A nonsense mutation causes human hereditary congenital goiter with preferential production of a 171-nucleotide-deleted thyroglobulin ribonucleic acid messenger. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;(October):210–5.
216. Caron P, Moya CM, Malet D, Gutnisky VJ, Chabardes B, Rivolta CM, et al. Compound heterozygous mutations in the thyroglobulin gene (1143delC and 6725G→A [R2223H]) resulting in fetal goitrous hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(8):3546–53.
217. Siffo S, Adrover E, Citterio CE, Miras MB, Balbi VA, Chiesa A, et al. Molecular analysis of thyroglobulin mutations found in patients with goiter and hypothyroidism. Vol. 473, *Molecular and Cellular Endocrinology.* Elsevier Ireland Ltd; 2018. 1-16 p.
218. Kanou Y, Hishinuma A, Tsunekawa K, Seki K, Mizuno Y, Fujisawa H, et al. Thyroglobulin gene mutations producing defective intracellular transport of thyroglobulin are associated with increased thyroidal type 2 iodothyronine deiodinase activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(4):1451–7.
219. Ricketts MH, Simons MJ, Parma J, Mercken L, Dong Q, Vassart G. A nonsense mutation

- causes hereditary goitre in the Afrikaner cattle and unmasks alternative splicing of thyroglobulin transcripts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(10):3181–4.
220. Niu DM, Hsu JH, Chong KW, Huang CH, Lu YH, Kao CH, et al. Six New Mutations of the Thyroglobulin Gene Discovered in Taiwanese Children Presenting with Thyroid Dysmorphogenesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(12):5045–52.
221. Citterio CE, Machiavelli GA, Miras MB, Gruñeiro-Papendieck L, Lachlan K, Sobrero G, et al. New insights into thyroglobulin gene: Molecular analysis of seven novel mutations associated with goiter and hypothyroidism. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;365(2):277–91.
222. Lee J, Wang X, Di Jeso B, Arvan P. The cholinesterase-like domain, essential in thyroglobulin trafficking for thyroid hormone synthesis, is required for protein dimerization. *J Biol Chem*. 2009;284(19):12752–61.
223. Bakker B, Bikker H, Vulsma T, De Randamie JSE, Wiedijk BM, De Vijlder JJM. Two decades of screening for congenital hypothyroidism in the Netherlands: TPO gene mutations in total iodide organification defects (an update). *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(10):3708–12.
224. Avbelj M, Tahirovic H, Debeljak M, Kusekova M, Toromanovic A, Krzysnik C, et al. High prevalence of thyroid peroxidase gene mutations in patients with thyroid dysmorphogenesis. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(5):511–9.
225. Narumi S, Muroya K, Asakura Y, Aachi M, Hasegawa T. Molecular basis of thyroid dysmorphogenesis: Genetic screening in population-based Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(11):1838–42.
226. Rodrigues C, Jorge P, Pires Soares J, Santos I, Salomão R, Madeira M, et al. Mutation screening of the thyroid peroxidase gene in a cohort of 55 Portuguese patients with congenital hypothyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2005;152(2):193–8.
227. Louzada RA, Corre R, Ameziane-El-Hassani R, Hecht F, Cazarin J, Buffet C, et al. Conformation of the N-Terminal Ectodomain Elicits Different Effects on DUOX Function: A Potential Impact on Congenital Hypothyroidism Caused by a H₂O₂ Production Defect. *Thyroid*. 2018;28(8):1052–62.
228. Belforte FS, Targovnik AM, González-Lebrero RM, Osorio Larroche C, Citterio CE, González-Sarmiento R, et al. Kinetic characterization of human thyroperoxidase. Normal and pathological enzyme expression in Baculovirus System: A molecular model of functional expression. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;404:9–15.
229. Rivolta CM, Esperante SA, Gruñeiro-Papendieck L, Chiesa A, Moya CM, Domené S, et al. Five novel inactivating mutations in the thyroid peroxidase gene responsible for congenital goiter and iodide organification defect. *Hum Mutat*. 2003;22(3):259–259.
230. Cangül H, Doğan M, Sağlam Y, Kendall M, Boelaert K, Barrett TG, et al. One Base Deletion (c.2422delT) in the TPO Gene Causes Severe Congenital Hypothyroidism. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2014;6(3):169–73.
231. Bikker H, Waelkens JJ, Bravenboer B, JAN JM. Congenital hypothyroidism caused by a premature termination signal in exon 10 of the human thyroid peroxidase gene. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;(September):2076–9.
232. Fugazzola L, Cerutti N, Mannavola D, Vannucchi G, Fallini C, Persani L, et al. Monoallelic expression of mutant thyroid peroxidase allele causing total iodide organification defect. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(7):3264–71.

233. Kotani T, Umeki K, Yamamoto I, Ohtaki S, Adachi M, Tachibana K. Iodide organification defects resulting from cosegregation of mutated and null thyroid peroxidase alleles. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;182(1):61–8.
234. Nascimento AC, Guedes DR, Santos CS, Knobel M, Rubio IGS, Medeiros-Neto G. Thyroperoxidase Gene Mutations in Congenital Goitrous Hypothyroidism with Total and Partial Iodide Organification Defect. *Thyroid.* 2003;13(12):1145–51.
235. Pannain S, Weiss RE, Jackson CE, Dian D, Beck JC, Sheffield VC, et al. Two different mutations in the thyroid peroxidase gene of a large inbred Amish kindred: Power and limits of homozygosity mapping. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(3):1061–71.
236. Cangul H, Aydin B, Bas F. A Homozygous TPO Gene Duplication (c.1184_1187dup4) Causes Congenital Hypothyroidism in Three Siblings Born to a Consanguineous Family. *J Pediatr Genet.* 2015;04(04):194–8.
237. Umeki K, Kotani T, Kawano JI, Suganuma T, Yamamoto I, Aratake Y, et al. Two novel missense mutations in the thyroid peroxidase gene, R665W and G771R, result in a localization defect and cause congenital hypothyroidism. *Eur J Endocrinol.* 2002;146(4):491–8.
238. Tan M, Huang Y, Jiang X, Li P, Tang C, Jia X, et al. The Prevalence, Clinical, and Molecular Characteristics of Congenital Hypothyroidism Caused by DUOX2 Mutations: A Population-Based Cohort Study in Guangzhou. *Horm Metab Res.* 2016;48(9):581–8.
239. Park K, Park H, Kim Y, Lee K, Park J, Park J, et al. DUOX2 Mutations Are Frequently Associated With Congenital Hypothyroidism in the Korean Population. *Ann Lab Med.* 2016;145–53.
240. Long W, Lu G, Zhou W, Yang Y, Zhang B, Zhou H, et al. Targeted next-generation sequencing of thirteen causative genes in Chinese patients with congenital hypothyroidism. *Endocr J.* 2018;65(10):1019–28.
241. Peters C, Nicholas AK, Schoenmakers E, Lyons G, Langham S, Serra EG, et al. DUOX2/DUOXA2 Mutations Frequently Cause Congenital Hypothyroidism that Evades Detection on Newborn Screening in the United Kingdom. *Thyroid.* 2019;29(6):790–801.
242. Muzza M, Rabbiosi S, Vigone MC, Zamproni I, Cirello V, Maffini MA, et al. The clinical and molecular characterization of patients with dys hormonogenic congenital hypothyroidism reveals specific diagnostic clues for DUOX2 defects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(3):544–53.
243. Vigone MC, Fugazzola L, Zamproni I, Passoni A, Di Candia S, Chiumello G, et al. Persistent mild hypothyroidism associated with novel sequence variants of the DUOX2 gene in two siblings. *Hum Mutat.* 2005;26(4):395.
244. Varela V, Rivolta CM, Esperante SA, Gruneiro-Papendieck L, Chiesa A, Targovnik HM. Three mutations (p.Q36H, p.G418fsX482, and g.IVS19-2A>C) in the dual oxidase 2 gene responsible for congenital goiter and iodide organification defect. *Clin Chem.* 2006;52(2):182–91.
245. Pfarr N, Korsch E, Kaspers S, Herbst A, Stach A, Zimmer C, et al. Congenital hypothyroidism caused by new mutations in the thyroid oxidase 2 (THOX2) gene. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;65(6):810–5.
246. De Marco G, Agretti P, Montanelli L, Cosmo C Di, Bagattini B, De Servi M, et al. Identification and functional analysis of novel dual oxidase 2 (DUOX2) mutations in children with congenital or subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(8):1335–9.

247. Fu C, Zhang S, Su J, Luo S, Zheng H, Wang J, et al. Mutation screening of DUOX2 in Chinese patients with congenital hypothyroidism. *J Endocrinol Invest*. 2015;38(11):1219–24.
248. Wang F, Lu K, Yang Z, Zhang S, Lu W, Zhang L, et al. Genotypes and phenotypes of congenital goitre and hypothyroidism caused by mutations in dual oxidase 2 genes. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;81(3):452–7.
249. Hoste C, Rigutto S, Van Vliet G, Miot F, De Deken X. Compound heterozygosity for a novel hemizygous missense mutation and a partial deletion affecting the catalytic core of the H₂O₂-generating enzyme DUOX2 associated with transient congenital hypothyroidism. *Hum Mutat*. 2010;31(4):1304–18.
250. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro MT, Missero C, Chiovato L. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet*. 1998;18(3):231–6.
251. Vilain C, Rydlewski C, Duprez L, Heinrichs C, Abramowicz M, Malvaux P, et al. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(1):234–8.
252. Sanctis LDE, Corrias A, Romagnolo D, Palma TDI, Biava A, Borgarello G, et al. Familial PAX8 small deletion (c.989_992delACCC) associated with extreme phenotype variability. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5669–74.
253. Al Taji E, Biebermann H, Límanová Z, Hníková O, Zikmund J, Dame C, et al. Screening for mutations in transcription factors in a Czech cohort of 170 patients with congenital and early-onset hypothyroidism: Identification of a novel PAX8 mutation in dominantly inherited early-onset non-autoimmune hypothyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(5):521–9.
254. Narumi S, Muroya K, Asakura Y, Adachi M, Hasegawa T. Transcription factor mutations and congenital hypothyroidism: Systematic genetic screening of a population-based cohort of Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(4):1981–5.
255. Congdon T, Nguyen LQ, Nogueira CR, Habiby RL, Medeiros-neto G, Kopp P, et al. A Novel Mutation (Q40P) in PAX8 Associated with Congenital Hypothyroidism and Thyroid Hypoplasia : Evidence for Phenotypic Variability in Mother and Child. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:3962–7.
256. Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, Parma J, Roussie AL, Abramowicz M, et al. Characterization of a Novel Loss of Function Mutation of PAX8 in a Familial Case of Congenital Hypothyroidism with In-Place , Normal-Sized Thyroid. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4285–91.
257. Vassart G, Dumont JE. Thyroid Dysgenesis : Multigenic or Epigenetic . . . or Both ? *Endocrinology*. 2005;146:5035–7.
258. Narumi S, Araki S, Hori N, Muroya K, Yamamoto Y, Asakura Y. Functional characterization of four novel PAX8 mutations causing congenital hypothyroidism: new evidence for haploinsufficiency as a disease mechanism. *Eur J Endocrinol*. 2012;167:625–32.
259. Hermanns P, Grasberger H, Cohen R, Freiberg C. Two Cases of Thyroid Dysgenesis Caused by Different Novel PAX8 Mutations in the DNA-Binding Region : In Vitro Studies Reveal Different Pathogenic Mechanisms. *Thyroid*. 2013;23(7):791-796.
260. Tell G, Pellizzari L, Esposito G, Pucillo C, Macchia PE, Lauro RDI, et al. Structural defects of a Pax8 mutant that give rise to congenital hypothyroidism. *Biochem J*. 1999;93:89–93.

261. Jo W, Ishizu K, Fujieda K, Tajima T. Case Report Congenital Hypothyroidism Caused by a PAX8 Gene Mutation Manifested as Sodium / Iodide Symporter Gene Defect. *J Thyroid Res.* 2010;2010:6–9.
262. Vincenzi M, Camilot M, Ferrarini E, Teofoli F, Venturi G, Gaudino R, et al. Identification of a novel pax8 gene sequence variant in four members of the same family : from congenital hypothyroidism with thyroid hypoplasia to mild subclinical hypothyroidism. *BMC Endocr Disord.* 2014;14(1):1–7.
263. Narumi S, Hasegawa T. Congenital hypothyroidism due to PAX8 mutations. *Thyroid Diseases in Childhood.* Springer, Cham; 2015. 65-74 p.
264. Sunthornthepvarakul T, Gottschalk M, Hayashi Y, Refetoff S. Resistance to Thyrotropin Caused By Mutations in the Thyrotropin-Receptor Gene. *N Engl J Med.* 1995;332(3):155–60.
265. Costagliola S, Sunthornthepvarakul T, Migeotte I, Van Sande J, Kajava AM, Refetoff S, et al. Structure-function relationships of two loss-of-function mutations of the thyrotropin receptor gene. *Thyroid.* 1999;9(10):995–1000.
266. Cangul H, Morgan N V., Forman JR, Saglam H, Aycan Z, Yakut T, et al. Novel TSHR mutations in consanguineous families with congenital nongoitrous hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;73(5):671–7.
267. Camilot M, Teofoli F, Gandini A, Franceschi R, Rapa A, Corriasi A, et al. Thyrotropin receptor gene mutations and TSH resistance: Variable expressivity in the heterozygotes. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;63(2):146–51.
268. Alberti L, Proverbio MC, Costagliola S, Romoli R, Boldrighini B, Vigone MC, et al. Germline mutations of TSH receptor gene as cause of nonautoimmune subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(6):2549–55.
269. De Roux N, Misrahi M, Brauner R, Houang M, Carel JC, Granier M, et al. Four families with loss of function mutations of the thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(12):4229–35.
270. De Marco G, Agretti P, Camilot M, Teofoli F, Tatò L, Vitti P, et al. Functional studies of new TSH receptor (TSHr) mutations identified in patients affected by hypothyroidism or isolated hyperthyrotrophinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009;70(2):335–8.
271. Lado-Abeal J, Castro-Piedras I, Palos-Paz F, Labarta-Aizpún JI, Albero-Gamboa R. A family with congenital hypothyroidism caused by a combination of loss-of-function mutations in the thyrotropin receptor and adenylate cyclase-stimulating G alpha-protein subunit genes. *Thyroid.* 2011;21(2):103–9.
272. Ma SG, Fang PH, Hong B, Yu WN. The R450H mutation and D727E polymorphism of the thyrotropin receptor gene in a chinese child with congenital hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010;23(12):1339–44.
273. Mizuno H, Kanda K, Sugiyama Y, Imamine H, Ito T, Kato I, et al. Longitudinal evaluation of patients with a homozygous R450H mutation of the TSH receptor gene. *Horm Res.* 2009;71(6):318–23.
274. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest.* 1997;99(12):3018–24.

275. Calebiro D, de Filippis T, Lucchi S, Covino C, Panigone S, Beck-Peccoz P, et al. Intracellular entrapment of wild-type TSH receptor by oligomerization with mutants linked to dominant TSH resistance. *Hum Mol Genet.* 2005;14(20):2991–3002.
276. Messina MF, Aversa T, Salzano G, Zirilli G, Sferlazzas C, De Luca F, et al. Early discrimination between transient and permanent congenital hypothyroidism in children with eutopic gland. *Horm Res Paediatr.* 2015;84(3):159–64.
277. Cho MS, Cho GS, Park SH, Jung MH, Suh BK, Koh DG. Earlier re-evaluation may be possible in pediatric patients with eutopic congenital hypothyroidism requiring lower L-thyroxine doses. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2014;19(3):141.
278. Olivieri A, Fazzini C, Medda E. Multiple factors influencing the incidence of congenital hypothyroidism detected by neonatal screening. *Horm Res Paediatr.* 2015;83(2):86–93.
279. Ünüvar T, Demir K, Abacı A, Büyükgebiz A, Böber E. Transient or Permanent Hypothyroidism. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013;5(3):170–3.
280. Itonaga T, Higuchi S, Shimura K, Nagasaki K, Satoh M, Takubo N, et al. Levothyroxine Dosage as Predictor of Permanent and Transient Congenital Hypothyroidism: A Multicenter Retrospective Study in Japan. *Horm Res Paediatr.* 2019;8561.
281. Calaciura F, Motta RM, Miscio G, Fichera G, Leonardi D, Carta A, et al. Subclinical Hypothyroidism in Early Childhood: A Frequent Outcome of Transient Neonatal Hyperthyrotropinemia. 2014;87:3209–14.
282. Leonardi D, Polizzotti N, Carta A, Gelsomino R, Sava L, Vigneri R, et al. Longitudinal study of thyroid function in children with mild hyperthyrotropinemia at neonatal screening for congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(7):2679–85.

ANEXOS

ANEXO 1. Valores de referencia de las hormonas tiroideas

	1-23 meses	2-12 años	>13 años
TSH (mU/L)	0.8-6.1	0.6-4.1	0.5-4.2
FT4 (ng/dL)	0.9-1.4	0.8-1.4	0.8-1.4
Tg (ng/mL)*	3.5-77		

Valores de referencia de los ensayos de inmunoquimioluminiscencia (LIA) del laboratorio del Hospital Universitari Vall d'Hebron.

Tg*: valores por rango de edad no disponibles

ANEXO 2. Informe del Comité Ético de Investigación Clínica



Pg. Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel. 93 489 38 91
Fax 93 489 41 80
ceic@vhtr.org

ID-RTF080

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Doña Mireia Navarro, Secretaria del COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA CON MEDICAMENTOS del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICA

Que el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebron, en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 276 el pasado 16 de diciembre de 2016 y evaluó el proyecto de investigación PR(AMI)390/2016 presentado con fecha 01/12/2016, titulado *"Identificación y caracterización de mecanismos moleculares implicados en la Dishormonogénesis Tiroidea mediante la aplicación de técnicas de secuenciación masiva y estudios funcionales"* que tiene como investigador principal al Dr. Diego Yeste Fernández del Servicio de Endocrinología de nuestro Centro.

Y que tras emitir un informe aprobado condicionado en dicha reunión y evaluar la documentación recibida posteriormente en respuesta a este informe

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

DICTAMEN FAVORABLE

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 1090/2015, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico
Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado
Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química



Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico
 Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico
 Balasso, Valentina. Médico
 Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga
 De Torres Ramírez, Inés M. Médico
 Fernández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria
 Fuentelsaz Gallego, Carme. Enfermera
 Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga
 Guardia Massó, Jaume. Médico
 Joshi Jubert, Nayana. Médico
 Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho
 Iavecchia, María Luján. Médico Farmacólogo
 Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo
 Sánchez Raya, Judith. Médico
 Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería
 Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital
 Vargas Blasco, Víctor, Médico

En dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 17 de enero de 2017

**MIREIA NAVARRO
 SEBASTIAN**

Firmado digitalmente por MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
 Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, ou=Vigues <https://www.catceri.cat/verificat> (903), ou=Serveis Públics de Certificació
 CPOSA-2, urn:NAVARRO SEBASTIAN, givenName=MIREIA,
 serialNumber=381212262, cn=MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
 Fecha: 2017.01.17 15:11:40 +0100

Sra. Mireia Navarro
 Secretaria CEIm