

CONCEPTOS Y ESTRATEGIAS APLICADAS A LA PESQUISA NEONATAL DE ENDOCRINOPATIAS

Dres. G. Dratler, V. Herzovich, E. Vaiani, S. Tilitzky, A. Ribas, E. Chaler, J. M. Lazzati, A. Belgorosky*

INTRODUCCION

Los programas de Pesquisa Neonatal son programas de salud pública destinados a la identificación de condiciones médicas que, de mediar una intervención oportuna y temprana, permitirían eliminar o reducir mortalidad, morbilidad o discapacidades.

Estos programas tienen su primer antecedente a comienzos de la década de 1960 con el trabajo de Robert Guthrie quién desarrolló un método para la pesquisa de Fenilcetonuria¹ y un sencillo y revolucionario sistema de recolección y transporte de muestras sanguíneas: la toma de sangre sobre papel de filtro. Este desarrollo permitió resolver las dificultades de conservación y de transporte de la muestra (que de este modo se ve preservada tras su desecación espontánea a temperatura ambiente) hasta un centro de procesamiento, evitando los engorrosos sistemas que exigen la refrigeración y empaque aislante de las muestras sanguíneas (suero, plasma, etc) en estado líquido². Las muestras de sangre en papel de filtro pueden transportarse mediante la red de correo en un simple sobre estampillado, ya que las condiciones de preservación de la muestra (siempre que no se haya expuesto el material a condiciones de calor y humedad extremo) y la bioseguridad para los transportistas están aseguradas, ya que los eventuales patógenos que pudieran sobrevivir en tales muestras se encuentran desecados y atrapados en la matriz del papel de filtro y no resultan de ninguna ma-

nera infectivos³. Los papeles de filtro que se utilizan actualmente poseen gran capacidad absorbente y elevada uniformidad (Whatman 903), de manera que bocados (ó "punchs") de 3 o 5 mm de diámetro cortados de tales papeles de filtro contienen siempre volúmenes calibrados, reproducibles y exactos de material sanguíneo para su cuantificación.

Los programas de pesquisa neonatal son considerados beneficiosos y costo-efectivos; sin embargo, su eficacia depende de la integración armónica de los siguientes componentes:

- Pesquisa propiamente dicha: la cual involucra la oportuna y adecuada toma de muestra y la ejecución bioquímica de los estudios de laboratorio.
- Seguimiento: Requiere la rápida localización y pronta derivación del niño con un resultado sospechoso.
- Diagnóstico (evaluación diagnóstica): Implica evaluar al niño con un resultado sospechoso, y realizar estudios diagnósticos definitivos para excluir o confirmar en forma definitiva el desorden.
- Implementación de un tratamiento oportuno.
- Evaluación de los resultados: validación de los procedimientos de laboratorio, evaluación de la eficacia de la intervención y seguimiento.

Los cimientos de estos programas descansan sobre los siguientes principios básicos:

Los procedimientos deben estar fácilmente disponibles, ser técnicamente factibles, económicamente viables y claramente beneficiosos para los recién nacidos afectados, sus familias y la sociedad.

Servicio de Endocrinología. * Investigadora Principal CONICET.
Jefa del Servicio de Endocrinología.
Hospital de Pediatría Juan P. Garrahan.

Las patologías que habrán de buscarse a través de la pesquisa neonatal, son objeto de decisión por parte de los organismos de salud, basados en el impacto para la salud pública (ISP) que ofrezca su detección temprana (además de su factibilidad técnica y económica, como ha sido mencionado). El impacto para la salud pública puede entenderse como el resultado de la siguiente ecuación de tres términos:

ISP= Prevalencia x Severidad x Efectividad de la Intervención

Se logra el mayor impacto en enfermedades de alta frecuencia, severas y de tratamiento efectivo únicamente mediante la intervención precoz⁴.

El mejor exponente de la pesquisa neonatal se encuentra en el área de la endocrinología: la pesquisa del Hipotiroidismo Congénito Primario, de probada experiencia y elocuentes resultados en todo el mundo. El Hipotiroidismo Congénito es una enfermedad severa, de incidencia elevada (varias veces mayor a la incidencia de la Fenilcetonuria), que se presenta sin síntomas y signos evidentes que permitan el diagnóstico clínico temprano, existen tests eficaces (sensibles y específicos) y su tratamiento es efectivo y de bajo costo. Todos estos factores hacen que la pesquisa neonatal del Hipotiroidismo Congénito tenga la relación costo/beneficio mas favorable entre los programas de pesquisa.

Otro ejemplo de importancia es la pesquisa neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita, sobre todo en el sexo masculino, como mecanismo de alerta precoz en la prevención de una crisis hidroelectrolítica secundaria a insuficiencia suprarrenal y para evitar la asignación errónea del sexo masculino en niñas recién nacidas virilizadas.

Hipotiroidismo Congénito

Las hormonas tiroideas tienen una función central en los períodos críticos del desarrollo humano, tanto en períodos prenatal como postnatal tempranos. Intervienen en el desarrollo somático y en la conformación del sistema nervioso central donde tiene un rol en la migración, proliferación y diferenciación neuronal; así como en el establecimiento de proyecciones y conexiones neuronales. El período de desarrollo del SNC sensible y dependiente de hormona tiroidea se extiende desde la vida fetal hasta los 2-3 años de vida.

La falta o insuficiencia de hormona tiroidea durante estos períodos tempranos de la vida constituyen el Hipotiroidismo Congénito. Su detección neonatal representa una urgencia endocrinológica, ya que la ausencia de un tratamiento precoz, reponiendo de forma exógena la hormona tiroidea (Levo-Tiroxina) insuficiente en los primeros días de vida⁵ impediría el despliegue

pleno del potencial genético físico e intelectual de recién nacido afectado. El hipotiroidismo Congénito es una patología absolutamente prevenible - a través de la pesquisa neonatal - que en libre evolución ocasiona una forma severa de retardo mental.

La forma mas grave y frecuente de Hipotiroidismo Congénito es el Hipotiroidismo Congénito primario, es decir cuando el motivo de la insuficiencia tiroidea se encuentra en la propia glándula tiroidea. Estos se pueden clasificar en a) Hipotiroidismos sin bocio ó disgenéticos (80% de los hipotiroidismos) por alteración del desarrollo embriológico de la glándula tiroidea. Genes alterados: TTF1, TTF2, PAX 8, NKX2-5, TSHR, Prot G, entre otros, b) Hipotiroidismo con bocio ó dishormonogénesis (20% de los hipotiroidismos) por déficit en la síntesis de hormonas tiroideas. Genes alterados: TG, TPO, Pendrina, NIS, Duox 2, Duox A2 y c) otros como aquellos por pasaje transplacentario de anticuerpos bloqueadores de origen materno, tratamiento con I-131 iatrogénico por cancer tiroides o hipertiroidismo, etc (6, 7).

Su incidencia en nuestro país, acorde a la experiencia del laboratorio de Pesquisa del Hospital de Pediatría JP Garrahan, es de 1:1936 recién nacidos vivos (145 casos en 280706 recién nacidos pesquizados).

Otras formas menos frecuentes (1:30000-1:50000) de hipotiroidismo congénito son posibles cuando el origen de la insuficiencia tiroidea esta asentado en la inacción de factores tróficos de la glándula tiroidea, los hipotiroidismos centrales: secundario (hipofisario) o terciario (hipotalámico) ó por inactividad de la hormona tirotrófica TSH.

Fue en el año 1974, en Québec, que Jean Dus-sault y Claude Laberge⁸ describieron por primera vez un método para detectar mediante la pesquisa neonatal el hipotiroidismo congénito (HC).

La glándula tiroidea esta regulada por un mecanismo clásico de retroalimentación negativa (feedback), por lo que la insuficiencia de la hormona tiroidea se ve reflejada en un aumento exponencial de la hormona hipofisaria TSH, que regula la actividad de la glándula tiroidea. La medición de esta hormona (en sangre seca recolectada sobre papel de filtro) como marcador sensible y específico de la presencia de hipotiroidismo congénito primario es la base de la estrategia adoptada en nuestro país para la pesquisa neonatal de esta patología.

Existen distintas modalidades utilizadas con el fin de realizar la pesquisa del Hipotiroidismo Congénito. En los Estados Unidos⁹ la estrategia está basada en la medición de T4 total en muestras de sangre en papel de filtro, seguida de una medición de TSH en papel de filtro, exclusivamente en aquellas muestras que mostraron las medi-

das más bajas de T4 (por debajo de un nivel arbitrario previamente establecido). La pesquisa primaria de T4 permite detectar condiciones adicionales como el hipotiroidismo congénito central y las deficiencias de TBG (thyroxine-binding globulin).

En Europa, Japón, Australia, Nueva Zelanda, y Latinoamérica (incluyendo nuestro país) definieron que la determinación de TSH represente el marcador primario y exclusivo. La TSH es el marcador más sensible y específico para detectar hipotiroidismo congénito primario, pero no es capaz de revelar las formas centrales de hipotiroidismo congénito. En Europa, dada la baja prevalencia de los hipotiroidismos centrales, se ha recomendado no incluir T4 en los programas de pesquisa. La pesquisa con TSH primaria puede resultar en un número de casos falsos positivos si la muestra es tomada antes de las 24 hs de vida, en razón de la superposición de la medición con el pico fisiológico de TSH que ocurre en las primeras horas de vida. Por este motivo es que la mayoría de los programas recomiendan la toma de muestra después de las 48 hs de vida.

Algunos programas han optado por la medición simultánea de TSH y T4¹⁰.

Existen programas que realizan la recolección rutinaria de una segunda muestra a todos los recién nacidos, luego de la 1er a 2da semana de vida (en el noroeste de los Estados Unidos realizan esta segunda toma rutinaria a las 6 semanas). Estos programas reportan que hasta un 10% de los hipotiroidismos congénitos son reconocidos en la segunda muestra (con un resultado normal en la primera muestra tomada en la maternidad). Estas situaciones ocurren tanto en aquellos programas basados en la pesquisa con T4 primario como en TSH primario¹¹, aunque su proporción podría ser algo mayor en los programas basados en T4 primario. La recolección de una segunda muestra luego de la segunda semana de vida mejoraría la detección de casos de hipotiroidismo primario, pero no la detección de los hipotiroidismos centrales.

Algunos de los niños diagnosticados como Hipotiroidismo Congénito en la segunda muestra tendrían un hipotiroidismo leve (TSH sérica 10 a 25 uIU/ml sangre) y no habrían excedido el valor de corte al momento de la primera extracción, sin embargo la mayoría de los casos perdidos en la primera muestra de pesquisa tendrían lo que se da en llamar TSH de elevación tardía, con T4 baja y TSH en rango normal en la primera muestra¹². Grupos de riesgo para la presentación de TSH de elevación tardía son los niños pretérmino¹³, especialmente aquellos de muy bajo peso¹⁴, o niños de término enfermos. Otros grupos de riesgo de presentar TSH de elevación tardía¹⁵ son los

niños con anormalidades cardiovasculares, pacientes con síndrome de Down y gemelos monocigóticos (este último grupo por mezcla de sangre de cordón que puede enmascarar inicialmente la presencia de HC). En su revisión, LaFranchi y col¹² han reportado una incidencia aproximada de hipotiroidismo Congénito permanente con TSH de elevación tardía de 1:18,000 a 1:40,000 recién nacidos. A la luz de estos resultados es que algunos programas realizan la recolección rutinaria de una segunda muestra. En Japón Naruse ha recomendado la disminución de los niveles de corte de TSH a fin de poder detectar aquellos hipotiroidismos congénitos con TSH inicial levemente elevada, que manifiestan elevación franca en una segunda muestra¹⁶.

Resultados alterados (en cualquiera de estos esquemas) generan la citación inmediata del recién nacido para consulta con el endocrinólogo para confirmación diagnóstica e inicio de tratamiento.

La condición de prematuridad complica la pesquisa del hipotiroidismo congénito. La T4 puede presentarse más baja en estos niños, por lo que los programas basados en T4 primario, deben usar niveles de corte diferente en estas situaciones. Algunos recién nacidos prematuros con verdadero hipotiroidismo congénito pueden presentar un retraso en la elevación de su TSH, por lo que no serán reconocidos a menos que se obtengan muestras seriadas. El comité de Endocrinología de la Sociedad Argentina de Pediatría (SAP) ha recomendado en los niños pretérmino menores de 32 semanas, repetir la pesquisa neonatal una vez alcanzada esta edad gestacional¹⁷.

Se debe tener especial atención en aquellos niños que han recibido medicaciones tales como dopamina o corticoides, por su efecto supresor sobre la liberación de TSH, que podrían llevar a la obtención de un caso falso negativo en la pesquisa del Hipotiroidismo Congénito primario¹⁷.

La determinación de T4 total en la pesquisa neonatal presenta la dificultad de ser afectada por los niveles de TBG (y en menor medida de Albúmina y transtiretina), por lo que una medición más conveniente sería la de T4 libre. El programa de pesquisa de la ciudad de Sapporo en Japón utiliza la determinación simultánea de TSH y T4 libre, para detectar los hipotiroidismos primarios y centrales¹⁸.

Como alternativa un programa en Holanda¹⁹ realiza la determinación de TBG en el 5% de las muestras con mediciones de T4 más bajas. La interpretación del resultado se realiza sobre el cociente T4/TBG. Al mismo tiempo realizan la medida de TSH en el 20% de aquellas muestras con T4 más bajas. De este modo, este programa tiene un esquema de 3 mediciones: T4, TSH y

TBG, y pueden detectar con eficacia los hipotiroidismos congénitos primarios y centrales¹⁹.

Hiperplasia Suprarrenal Congénita

Se denomina hiperplasia suprarrenal congénita (HSC), a un grupo de enfermedades ocasionadas por un defecto genético en alguna de las cinco enzimas involucradas en la esteroidogénesis adrenal. Es una de las causas más frecuentes de error congénito del metabolismo.

La pesquisa neonatal está enfocada en la detección temprana del defecto enzimático más frecuente: la deficiencia de la enzima 21-hidroxilasa, que da cuenta del 90- 95% de los casos de HSC. La deficiencia de esta enzima produce un defecto en la síntesis de cortisol y frecuentemente también de aldosterona. Cuando la actividad de una enzima de la esteroidogénesis es nula o disminuida se acumulan los metabolitos precursores. En el caso de la deficiencia de 21 OH-lasa, el metabolito que aumenta, entre otros, es la 17 hidroxiprogesteroína el cual es un sensible marcador diagnóstico. Por lo tanto el diagnóstico se realiza midiendo niveles elevados de 17-hidroxiprogesteroína (17OH-P) en sangre (pesquisa) y sérica (confirmatorio). El estudio se completa con la detección del defecto molecular del gen que codifica a la enzima 21-hidroxilasa (CYP 21) en el DNA genómico obtenido de linfocitos de sangre periférica. Fue en 1977 que la Dra Sonya Pang (21) publicó el primer método para la determinación de 17OHP en papel de filtro, por radioinmunoensayo, aplicado a la pesquisa de la HSC.

Exceptuando ciertas poblaciones especiales (en las cuales esta patología es muy prevalente, como la población esquimal de Alaska), la incidencia mundial de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita (HSC) es de 1 en 15.000 nacidos vivos, según un reporte de S Pang, basado en el recuento de más de quince millones de niños pesquisados entre 1980 y 1996 en 13 países diferentes^{22,23}. En Argentina, L.Gruñeiro y col²⁴ reportaron una incidencia de 1:8.937 nacidos vivos (9 casos de HSC en 80.436 recién nacidos), con una relación F/M=0,8.

Más del 90% de las formas clásicas, severas, resultan de un defecto del gen de la 21 hidroxilasa, CYP21, el cual lleva a producir cantidades inadecuadas de Cortisol. Como resultado se acumulan sus precursores, que derivan hacia la síntesis excesiva de andrógenos adrenales. Estos precursores androgénicos, que se metabolizan a andrógenos más potentes, no afectan la diferenciación sexual de los fetos masculinos pero sí de los fetos femeninos ocasionando ambigüedad genital. El exceso de andrógenos en el feto femenino evita la formación separada de los canales

uretral y vaginal originándose un seno urogenital. Además, viriliza los genitales externos produciendo hipertrofia de clítoris, fusión de los pliegues labio escrotales y migración rostral del orificio uretral en grado variable (la virilización se cuantifica según escala de Prader en 5 grados, siendo el grado 5 masculinización completa). Los genitales internos femeninos se desarrollan normalmente (útero, trompas, ovarios).

La deficiencia de Cortisol causa una incapacidad para mantener niveles de energía y glucosa adecuados para hacer frente a las injurias y las enfermedades. La letargia y coma pueden llevar a la muerte del niño afectado.

La deficiencia de Aldosterona causa deshidratación con pérdida de sodio y agua a través de la orina, con disminución del sodio (hiponatremia) y aumento del potasio séricos (hiperkalemia). Las manifestaciones clínicas incluyen: vómitos, debilidad, shock hipovolémico y arritmia cardíaca. Las formas severas de HSC pueden ser rápidamente fatales, por lo que el diagnóstico e intervención tempranos son críticos para evitar la muerte del neonato.

En el período postnatal la virilización progresiva, y crecimiento lineal y maduración ósea excesivas, ocurren como resultado de la producción aumentada de testosterona.

La hiperplasia suprarrenal congénita se manifiesta en un espectro de presentaciones clínicas, dependiendo del grado de déficit de actividad enzimática. Las formas clásicas (objetivo del screening) se presentan en el período neonatal y pueden ser: a) formas con deficiencia grave de actividad enzimática o perdedoras de sal (deficiencia de cortisol y aldosterona) en el 75% de los casos y b) formas menos severas virilizantes simples (con deficiencia de cortisol solamente) en el 25 % de los casos.

Una tercer presentación, no clásica, puede existir en niños mayores (late-onset o presentación tardía), con síntomas más moderados. Las formas leves de la deficiencia de CYP21, llamada HSC no clásica, y otros tipos de HSC no relacionados al déficit de CYP21 no son detectados por los procedimientos de pesquisa neonatal.

Los recién nacidos (RN) con la forma clásica perdedora de sal desarrollan entre los 7- 30 días de vida la "crisis adrenal". Clínicamente se manifiesta por mala actitud alimentaria, pobre ganancia ponderal, vómitos, diarrea, deshidratación, letargo. Es característica la presencia de hiponatremia e hiperkalemia. En caso de no recibir tratamiento adecuado, la evolución es hacia el shock hipovolémico y la muerte. Las niñas afectadas presentan ambigüedad genital con diferente grado de virilización. Los varones afectados

presentan genitales normales al nacer por lo que la sospecha diagnóstica en general se hace tardíamente cuando presentan la crisis adrenal.

En las formas clásicas virilizante simple no se produce la crisis adrenal.

Las niñas presentan ambigüedad genital y los varones genitales normales. En estos últimos el diagnóstico suele hacerse durante la infancia por presentar signos de pubertad precoz (signos puberales en presencia de testículos con un volumen menor a 3 cc).

La forma de presentación no clásica se manifiesta más tardíamente (con pubarca precoz), o en la adolescencia (con hirsutismo y oligomenorrea en las niñas).

Los objetivos de la pesquisa de HSC²⁵ son: a) prevenir la crisis adrenal por pérdida salina (hiponatremia, hiperkalemia severas) con riesgo de shock hipovolémico y muerte o por stress (cirugías, accidentes), que puede ocurrir en la forma perdedora de sal de HSC que no ha sido reconocida y tratada, b) evitar la asignación errónea del sexo masculino en niñas recién nacidas virilizadas, que puede ocurrir en la forma virilizante simple de la HSC y c) prevenir los daños físicos y emocionales causados por el exceso de andrógenos (pubertad precoz, baja talla adulta).

En relación a la efectividad de ésta pesquisa neonatal, es interesante la observación realizada por Pang^{22,23} quien reportó una incidencia de HSC de 1:14934 obtenida a partir de la pesquisa neonatal de 15.400.000 recién nacidos en todo el mundo (13 países) entre 1980 y 1996, comparada con la incidencia de 1:33462 obtenida en esos mismos países por diagnóstico clínico entre 1958 y 1981 (de una población de 21.800.000 recién nacidos), en el período previo a la implementación de los programas de pesquisa de HSC. Estos datos sugieren fuertemente que antes de la implementación de la pesquisa de HSC ocurría un fuerte subdiagnóstico que culminaba con el fallecimiento del niño afectado, sin ser reconocido como afectado de HSC. La misma autora describió, a nivel mundial, que la frecuencia de formas de HSC (977 casos) diagnosticadas por pesquisa neonatal entre 1980 y 1986 resultaron en un 70% perdedoras de sal y 30% virilizantes simples, mientras que la frecuencia de formas de HSC (1390 casos) diagnosticadas clínicamente, sin pesquisa neonatal, entre 1962 y 1981, eran 55% perdedoras de sal y 45% virilizantes simples. Esta observación sería el resultado del subdiagnóstico de un número importante de formas severas que ocurría en el período anterior a la implementación de ésta pesquisa neonatal. La relación de casos Masculino:Femenino detectados por pesquisa neonatal fue de 1,2: 1 (n: M=563, F=481), mientras que la relación fue de 0,6 : 1 (n:

M=387, F=626 casos) cuando el diagnóstico se realizaba clínicamente, debido al subdiagnóstico de pacientes masculinos que ocurría como consecuencia de su falta de genital ambiguo como signo clínico evidente, fácilmente reconocible en las niñas. La autora mostró que de 793 casos diagnosticados por pesquisa neonatal, el 67% de los mismos no presentaban sospecha clínica (44% de las niñas y 87% de los varones con HSC), mientras que el 33% restante de los casos, con sospecha clínica, un 30% presentaba ambigüedad genital, un 2,5% poseía antecedentes familiares de enfermedad y un 0,5% otros síntomas.

La mayoría de los programas establecidos tienen por objeto detectar las formas severas perdedoras de sal de HSC, que usualmente tienen niveles elevados de 17-hidroxiprogesterona al nacer. Algunos casos de HSC no perdedoras de sal pueden pasar desapercibidos por tener niveles más bajos o elevaciones más lentas de 17-hidroxiprogesterona. Aquellos programas de pesquisa con recolección programada de una segunda muestra (universal y obligatoria) a los 7 a 15 días de vida podrían detectar casos no clásicos y un mayor número de casos de HSC simples virilizantes.

En los neonatos, los niveles normales de 17-hidroxiprogesterona varían con la edad gestacional, el stress, y posiblemente otros factores. Los valores normales dependen de la edad gestacional y son más bajos para niños de término con peso normal al nacer.

Los diferentes programas de pesquisa difieren en su curso de acción luego de obtenido un resultado sospechoso, dependiendo de la metodología comercial en uso y las experiencias individuales.

La mayoría de los programas tienen dos cursos de acción diferentes, dependiendo de si los niveles de 17-hidroxiprogesterona obtenidos son considerados como "elevación moderada" o como "elevación de alto riesgo". La definición de que niveles son considerados determinantes de una u otra categoría varían de acuerdo a la edad gestacional y al programa. Los resultados de 17-hidroxiprogesterona en la categoría de "elevación de alto riesgo" requerirán de una evaluación diagnóstica urgente, mientras que aquellos resultados en la categoría de "elevación moderada" requerirán observación y retesteo (la obtención de dos resultados consecutivos dentro de esta categoría determinarán la reclasificación del niño como de "alto riesgo" y requerirá consiguientemente de evaluación diagnóstica). Los casos con resultados que requieren acción inmediata deben ser informados al proveedor primario de salud (médico), para citar al niño, y realizar un cuidadoso examen físico con énfasis en su historia

alimentaria, vómitos, micción, cambios de peso desde el nacimiento, presencia de deshidratación o shock hipovolémico, letargia, irritabilidad y la asignación de sexo (visualización de introito vaginal, palpación de escroto por testículos). Estudios de laboratorio centrales son: sodio, potasio, cloro en suero, CO₂, glucosa y 17-hidroxiprogesterona en suero.

Particular atención merecen aquellos quienes no han podido ganar peso al 7mo día de vida, que tienen una concentración sérica de sodio de 130 mEq/L o menos, o aquellos con una concentración sérica de potasio por encima de 7 mEq/L, o hipotensos o con arritmias cardíacas.

El examen confirmatorio en suero debe ser parte integral del diagnóstico (17-hidroxiprogesterona directa y extraída en éter etílico). En los casos que el neonato exhiba síntomas de pérdida salina está indicado dar hidrocortisona iv de manera inmediata, junto con solución de glucosa y solución salina sin potasio, para mantener el volumen vascular.

Aunque hay una tendencia a tratar las elevaciones de 17-hidroxiprogesterona en prematuros con menos urgencia dado su tendencia a presentar tales elevaciones, estos no son una población especialmente protegida, y su cuidado es igualmente urgente. Cualquier signo de virilización en las niñas debe tratarse como sospechoso de HSC. Está también el caso de virilización debida a un déficit de 11 hidroxilasa, el cual puede presentarse con niveles normales de 17-hidroxiprogesterona.

La 17-hidroxiprogesterona (17OHP) en sangre seca sobre papel de filtro es medida por técnicas de inmunoensayo (RIA, ELISA, DELFIA). Los problemas relacionados a estas técnicas han sido una baja especificidad del anticuerpo, en combinación con la presencia de abundantes hormonas con reacción cruzada en la sangre neonatal. Otro factor es el estrés debido a la prematurez o la criticidad del neonato enfermo que generalmente incrementan conjuntamente la secreción de Cortisol y 17OHP. En estas condiciones la medida exclusiva de 17OHP puede llevar a situaciones de falsos positivos, por sospecha errónea de Hiperplasia Suprarrenal Congénita.

Se han adoptado diversas estrategias a fin de mejorar el valor predictivo positivo de los programas de pesquisa de HSC sin sacrificar sensibilidad en el proceso. Una estrategia adoptada ha sido medir la relación 17OHP con el Cortisol, luego de medir el Cortisol por inmunoensayo (como segundo ensayo en el papel de filtro).

Un modelo de trabajo ampliamente empleado es la estratificación de los valores de corte según la edad gestacional y/o peso al nacer^{26,27,28}. Los neonatos pretérmino presentan niveles elevados

de 17OHP en relación con los niños nacidos a término, con valores decrecientes a medida que ocurre un incremento de la edad gestacional o de peso. La elevación de la 17OHP en los niños pretérmino puede explicarse ya sea por una sobreproducción natural necesaria para mantener niveles adecuados de cortisol en el prematuro, y/o por la contribución de esteroides estructuralmente relacionados producidos por la glándula adrenal fetal, con reactividad cruzada con la 17OHP. La aplicación de un valor de corte único para el total de la población, provoca la obtención de una excesiva tasa de rellamado, especialmente de aquellos pretérminos de menos de 32 semanas, por lo que el uso de valores de corte ajustados ha permitido reducir significativamente las tasas de rellamado (más de 10 veces). Una observación interesante es que los niños nacidos de término pero con bajo peso al nacer presentan valores similares a aquellos de peso adecuado, y no a los niños prematuros de peso similar, por lo que en estos casos no es necesario aplicar ninguna corrección en el valor de corte.

La genotipificación ha sido propuesta como segundo ensayo para incrementar el valor predictivo positivo de la pesquisa neonatal de HSC, aunque aun no parece factible con fines de pesquisa masiva.

Otra estrategia, de importancia creciente, es la espectrometría de masa en tandem (MS/MS)²⁹, considerada el estándar de oro en la pesquisa neonatal de HSC ya que permite la realización de perfiles esteroideos, que aportan gran especificidad al ensayo. La cromatografía líquida-espectrometría de masa en tandem, como segundo ensayo en aquellas muestras con 17OHP dentro del 3-5% superior, permite medir simultáneamente 17OHP, androstenediona y cortisol. Una experiencia realizada por Lacey, Minutti y col^{30,31}, permitió aumentar 9 veces el valor predictivo positivo, desde 0,5% (usando solo 17OHP) a 4,7% (midiendo los 3 compuestos), ya que la determinación del perfil de esteroides permitió eliminar el 89% de los falsos positivos^{32,33} utilizando la relación (Androstenediona + 17-OHP) / Cortisol para discernir entre los casos falsos positivos y verdaderos positivos. Jansen y colaboradores utilizaron la relación (21-deoxicortisol + 17-OHP) / Cortisol el cual incrementó la eficacia del método reduciendo la tasa de falsos positivos desde un 1% cuando es medida únicamente la 17OHP, hasta virtualmente cero, por lo que proponen la determinación del perfil esteroideo como segundo ensayo en la pesquisa neonatal en todas aquellas muestras con 17OHP elevada³⁴.

En búsqueda de mejores métodos los productores comerciales de reactivos contribuyen usualmente al refinamiento de los dosajes hormonales

introduciendo el uso de anticuerpos más específicos a fin de incrementar la eficacia de los inmunoensayos existentes³⁵.

El procesamiento preanalítico de la muestra por extracción con solvente, también ha sido abordado (y es usado en ciertos programas) para incrementar la especificidad de esta pesquisa^{36,37}.

Una característica de los programas de pesquisa de HSC en Japón es la toma de muestra, obtenida entre el 4to y 7mo día de vida del niño, que entonces presentan valores de 17OHP más bajos que los obtenidos en nuestro medio.

Un problema adicional es la práctica del alta temprana de las maternidades, situación creciente fundada en la necesidad de reducir costos y de satisfacer la demanda de camas, el cual ocasiona que un número elevado de muestras sean obtenidas antes de las 24-48 hs de vida, por lo que valores de corte ajustados a las horas de vida también han sido propuestos, aunque variables adicionales como la edad gestacional o el peso, pueden resultar confusorias para su aplicación en todos los casos³⁸.

A considerar, es la interferencia potencial producida por el diurético espirolactona, que presenta reacción cruzada con la 17 -hidroxiprogesterona (17OHP) en algunas metodologías³⁹, y el tratamiento con dexametasona que la madre o el RN hayan recibido, que podría hacer descender los niveles de 17-OH-P, y arrojar un resultado falsamente negativo.

CONCLUSIONES

Un concepto pilar en la organización de un sistema de Pesquisa neonatal es el reconocimiento de que la Pesquisa Neonatal NO es un examen de laboratorio. La Pesquisa Neonatal es en realidad un sistema multidisciplinario, en el que intervienen los padres, enfermeras, médicos del programa, bioquímicos, técnicos y médicos de especialidades (Endocrinología, Metabolopatías, Nutrición, Pneumonología, Genética, etc).

Es importante conocer las fortalezas y las limitaciones de los programas de pesquisa. Un test de Pesquisa no es un test diagnóstico, sino una metodología de rastreo poblacional, que permite distinguir aquellos niños que PROBABLEMENTE tengan un desorden de aquellos quienes PROBABLEMENTE NO lo tengan.

El médico debe tener claro el significado y la urgencia de un resultado alterado y, junto al especialista y laboratorios de especialidades debe resolver el diagnóstico final y discriminar entre los "verdaderos" y los "falsos" positivos. El laboratorio de Pesquisa, como fue tratado a lo largo de este artículo, busca modos de mejorar la especificidad de sus métodos, de manera de op-

timizar su papel, y de asegurar la confianza del médico en los resultados (de modo tal de no disminuir su grado de alarma, lo cual ocurre cuando se produce un número elevado de falsos positivos) y de preservar al paciente y a sus padres del impacto emocional no deseado y pernicioso de recibir un resultado alterado en ausencia de patología.

Los resultados positivos requieren una acción médica urgente en pos de lograr una gestión efectiva; sin embargo se debe entender que los estudios de pesquisa son orientativos y la acción del laboratorio debe integrarse con la acción médica que tendrá a su cargo el proceso diagnóstico. Se deberá, por tanto, ser cauto en la transmisión de la información a las familias hasta tanto estén completos los procedimientos confirmatorios.

Asimismo, la pesquisa neonatal puede pasar por alto cierto número de situaciones, (ej. Hipotiroidismos centrales, TSH de elevación tardía, formas moderadas de Hiperplasia Suprarenal, etc) y por lo tanto un resultado negativo no excluye en forma definitiva un diagnóstico de patología, que siempre deberá evaluarse ante la evidencia de síntomas o signos sugestivos.

La pesquisa neonatal aunque es reconocida universalmente como una eficaz y poderosa herramienta diagnóstica, no reemplaza al pediatra y persiste la necesidad de una búsqueda prospectiva de estas patologías por parte de los mismos, para llegar a cumplir con el compromiso de obtener un niño sano.

Un resultado normal de pesquisa neonatal no excluye el desarrollo de hipotiroidismo posteriormente en la infancia por lo que la vigilancia clínica de esta patología debe ser mantenida por los pediatras.

La pesquisa neonatal pone al médico neonatólogo, al médico especialista y a los laboratorios de especialidades en roles claves y definitivos del sistema de pesquisa, y confirma concluyentemente su carácter multidisciplinario.

REFERENCIAS

- 1 Guthrie R, Susi A. A simple method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics*. 1963; 32: 338-343.
- 2 H Hannon, J Boyle, B Davin, A Marsden, E McCabe, M Schwartz, G Scholl, B Therrell, M Wolfson, F Yoder. Blood Collection on Filter Paper for Neonatal Screening Programs; Approved Standard – Third Edition. Volume 17 Number 16. LA4-A3. October 1997.
- 3 Knudsen, Slazyk W, Richmond J, Hannon H. Guidelines for the Shipment of Dried Blood Spot Specimens. *Infant Screening*, Vol. 16, No. 1, March 1993.
- 4 Serving the Family from Birth to the Medical Home. A Report from the Newborn Screening Task Force Convened in Washington DC, May 10-11, 1999. *Pediatrics*. August 2000. Volume 106. Number 2. (Supp). 383-427.
- 5 Iorcansky S. Tiroideopatías Infanto-Juveniles. Separata 1997. Química Montpellier.
- 6 Fundamentos moleculares del Hipotiroidismo Congénito. Moreno JC. *An Pediatr* 2004; 60 (supl 2): 36-41.

7. Rivolta C, Moya CM, Esperante SA, Gutnisky VJ, Varela V, Tar-govnik H. La tiroides como modelo de mecanismos moleculares en enfermedades genéticas. *MEDICINA* (Buenos Aires) 2005; 65: 257-267.
8. Dussault JH, Coulombe P, Laberge C, Letarte J, Guyda H, Khoury K. Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism. *J Pediatr*. 1975. 86:670-674.
9. Pass K, Lane P, Fernhoff P, Hinton C, Panny S, Parks J, Pelias M, Rhead W, Ross S, Wethers D, Elsas L. US Newborn Screening System Guidelines II: Follow-up of Children, Diagnosis, Management, and Evaluation. Statement of the Council of Regional Networks for Genetic Services (CORN). *J Pediatr*. October 2000. Volume 137. Number 4. (Supp).
10. Zamboni G; Zaffanello M; Rigon F; Radetti G; Gaudino R; Tatò L. Diagnostic effectiveness of simultaneous thyroxine and thyroid-stimulating hormone screening measurements. Thirteen years' experience in the Northeast Italian Screening Programme. *J Med Screen*. February 2004, vol. 11, no. 1, pp. 8-10(3).
11. Yunis KA, Nasr MR, Lepejian G, Najjar S, Daher R. False-negative primary neonatal thyroid screening: the need for clinical vigilance and secondary screening. *J Med Screen* 2003;10:2-4.
12. Stephen H. LaFranchi, MD. Advances in Managing Infants and Children With Congenital Hypothyroidism. *Review of Endocrinology*. Sep 2007.
13. Hyman SJ, Greig F, Holzman I, Patel A, Wallach E, Rapaport R. Late rise of thyroid stimulating hormone in ill newborns. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2007 Apr ;20 (4):501-10 17550214.
14. Larson C, Hermos R, Delaney A, Daley D, Mitchell M. Risk factors associated with delayed thyrotropin Elevations in congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 2003;143:587-91
15. Brown R, Larsen PR. Thyroid gland development and disease in infants and children. *The Thyroid and its Diseases*. Chapter 15. February 28, 2005.
16. Neonatal Screening in Japan. Past and present. Hiroshi Naruse. *Journal of Japanese Society for Mass Screening*. 1998, Vol 8, (Supp) 1, 17-27.
17. Recomendaciones para los programas de pesquisa neonatal de hipotiroidismo congénito. Comité de Endocrinología. *SAP. Arch.Argent.Pediatr*. 2000, 98 (4): 244.
18. Central Congenital Hypothyroidism detected by neonatal Screening in Sapporo, Japan (2000-2004): Its prevalence and clinical characteristics. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2008; 17 (3), 65-69.
19. Lanting CI, Van Tijn DA, Loeber JG, Vulsma T, De Vijlder JJ, Verkerk PH. Clinical and cost-effectiveness of the use of the T4/TBG-ratio to detect congenital hypothyroidism of thyroidal and central origin in a neonatal screening program. *Pediatrics* 2005;116:168-73.
20. Delbert Fisher, M.D. Editorial: Next Generation Newborn Screening for Congenital Hypothyroidism? *J Clin End Met*. 2005. 90(6):3797-3799.
21. Pang S, Hotchkiss J, Drash AL, Levine LS, New MI. Microfilter paper method for 17-hydroxyprogesterone radioimmunoassay: its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1977; 45:1003-8.
22. International Newborn Screening (NBS) Collaborative Study on 21-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia frequency, phenotype variability and effectiveness of NBS. Pang S. Joint Meeting of Pediatric Academic Societies/American Academy of Pediatrics. May 5, 2003. Seattle, WA [abstract]. *Pediatr Res*. 2003;52 :155A. Comunicación personal Dr Kenjie Fujieda. 2004. JICA training course for Neonatal Screening. Sapporo City Institute of Public Health.
23. Pang SY, Wallace MA, Hofman L, et al. Worldwide experience in newborn screening for classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics* 1988;81(6):866-74.
24. Gruñeiro-Papendieck L, Chiesa A, Mendez V, Prieto L. Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia: Experience and Results in Argentina. *J Ped End Met*. 2008; 21: 73-78.
25. Technical Report: Congenital Adrenal Hyperplasia. *Pediatrics*. 2000;106(6):1511-1518.
26. Gruneiro-Papendieck L, Prieto L, Chiesa A, Bengolea S, Bossi G, Bergada C. Neonatal screening program for congenital adrenal hyperplasia: adjustments to the recall protocol. 2001; *Horm Res* 55: 271-277.
27. Torresani T, Grütters A, Scherz R, Burckhardt JJ, Harras A, Zachmann M. Improving the efficacy of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by adjusting the cut-off level of 171-hydroxyprogesterone to gestational age. 1994; *Screening* 3:77-84.
28. Olgemöller B, Roscher A, Liebl B, Fingerhut R. Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia: Adjustment of 17-Hydroxyprogesterone Cut-Off Values to Both Age and Birth Weight Markedly Improves the Predictive Value. *J Clin Endocrinol Metab* Vol.88, No. 12 5790-5794.
29. Marsden D, Larson C. Emerging Role for Tandem Mass Spectrometry in Detecting Congenital Adrenal Hyperplasia. *Clin Chem*. 2004. 50: 467-468, 2004.
30. Lacey JM, Minutti CZ, Magera MJ, Tauscher AL, Casetta B, McCann M, Lymp J, Houn Hahn S, Rinaldo P, Matern D. Improved Specificity of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia by Second-Tier Steroid Profiling Using Tandem Mass Spectrometry. *Clin Chem*. 2004;50:621-625.
31. Minutti CZ, Lacey JM, Magera MJ, Houn Hahn S, McCann M, Schulze A, Cheillan D, Dorche C, Chace DH, Lymp JF, Zimmerman D, Rinaldo P, Matern D. Steroid Profiling by Tandem Mass Spectrometry Improves the Positive Predictive Value of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004. Vol. 89, No. 8 3687-3693.
32. Speiser P. Editorial: Improving Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8):3685-3686.
33. Minutti CZ, Lacey JM, Magera M, Houn Hahn S, McCann M, Schulze A, Cheillan D, Dorche C, Chace D, Lymp J, Zimmerman D, Rinaldo P, Matern D. Steroid Profiling by Tandem Mass Spectrometry Improves the Positive Predictive Value of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* Vol. 89, No. 8 3687-3693.
34. Janzen N, Peter M, Sander S, Steuerwald U, Terhardt M, Holtkamp U, Sander J. Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia: Additional Steroid Profile using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92(7):2581-2589.
35. Ebgstrom M, Nystrom P, Ankelo M, Torresani T, Seppala J, Ostrop J. Improved AutoDELFI/DELFI Neonatal 17 OH-Progesterone kit. Punta del Este, Uruguay. V Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal. Sept 2007.
36. Neonatal and Infantile Screening. Dec 2004. Tokio Health Service Association.
37. Screening Program in Sapporo City. 2004. JICA training course for Neonatal Screening. Sapporo City Institute of Public Health.
38. Gruneiro-Papendieck L, Prieto L, Chiesa A, Bengolea S, Bergada C, Bergada C. Congenital adrenal hyperplasia and early newborn screening: 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) during the first days of life. *J Med Screen* 1998;5:24-26.
39. Terai I, Yamano K, Ichihara N, Arai J, Kobayashi K. Influence of spironolactone on neonatal screening for congenital adrenal Hyperplasia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* Ed 1999;81: F179-F183.