

Pesquisa de hipotiroidismo congénito: resultados de dieciocho años de trabajo ininterrumpido en el Hospital Italiano de Buenos Aires

Marta Balzaretto, Andrea Kozak, Tomás Fernández Gianotti, Guillermo Alonso, Alejandro Jenik y Patricia Fainstein Day

RESUMEN

Presentamos la experiencia de la pesquisa de hipotiroidismo congénito (HC) en la que se evaluaron 37 750 neonatos nacidos en el Hospital Italiano de Buenos Aires y su filial de San Justo entre los años 1989 y 2007. Se midió tirotrófina por radioinmunoensayo. Se detectaron 25 neonatos con HC: 10 definitivos, 2 transitorios y 13 no confirmados aún; como resultado se registró una prevalencia de HC definitivo de 1/3 775. La causa más frecuente de HC definitivo fue la disgenesia tiroidea. El permanente ajuste de los valores de corte de TSH hizo posible disminuir el porcentaje de falsos positivos y consecuentemente el porcentaje de recitación en un 91.3% en este período.

Enfatizamos la importancia de la detección temprana del HC a fin de instaurar un tratamiento precoz y evitar así el retardo mental y neurológico que esta enfermedad produce.

Palabras clave: hipotiroidismo congénito, pesquisa neonatal, tirotrófina

ABSTRACT

To assess the occurrence of congenital hypothyroidism (CH), 37 750 newborns were evaluated at Hospital Italiano de Buenos Aires and its affiliated hospital in San Justo between 1989 and 2007. Determination of thyrotropin by radioimmunoassay allowed for the detection of 25 newborns with CH of whom 10 were definitive, 2 transient and 13 without confirmation at the current time. The prevalence of definitive CH was 1/3775 newborns, being thyroid dysgenesis the most common cause of the disease. A continuous adjustment of TSH threshold values resulted in a decrease of false positive cases with a consequent reduction of 91.3% on office visits for follow-up during this period.

We remark on the importance of an early detection of CH so that treatment can be initiated to prevent mental and neurological retardation associated with the disease.

Keywords: congenital hypothyroidism, neonatal screening, thyrotropin

INTRODUCCIÓN

El objetivo del programa de pesquisa o *screening* neonatal es la identificación del hipotiroidismo congénito (HC) primario (HCP) mediante la medición de tirotrófina (TSH) para evitar las alteraciones en el desarrollo que se producen en el niño si no es tratado en los primeros días de vida.^{1,2} De no ser así, los pacientes presentarán retardo mental severo, retraso de crecimiento y otras alteraciones neurológicas.

En el hipotiroidismo hipotalámico e hipofisario, que se diagnostica dosando T4, existe cierto grado de autonomía funcional de la glándula tiroidea, el grado de hipotiroidismo es menos grave y, en consecuencia, la secuela en el sistema nervioso central suele ser menos severa o inexistente y su prevalencia es baja, aproximadamente 1:50 000.³

Por lo tanto, los programas de pesquisa fueron desarrollados para el diagnóstico del HCP.⁴⁻⁹

En el cerebro, la hormona tiroidea T4 se transforma en T3 mediante la deiodinasa tipo 2; T3 es un regulador importante del desarrollo y desempeña un papel crucial en la maduración del sistema nervioso central (SNC). La deficiencia de T3 produce alteraciones irreversibles de la estructura y función del SNC, que incluye retrasos en la diferenciación neuronal con morfología anormal de las dendritas y alteraciones en el crecimiento de los procesos neuronales. Tanto los oligodendrocitos como las neuronas tienen receptores nucleares para T3 de dos tipos denominados TRa1 y TRb (b1, b2 y b3). Estos receptores son factores de transcripción que activan o reprimen la expresión de genes así regulados.

Algunos de estos genes están relacionados con procesos clave del crecimiento axonal y dendrítico, a través de la codificación de proteínas del citoesqueleto como la tubulina.¹⁰ La hormona tiroidea T3 regula además aspectos críticos del desarrollo del cerebelo, como la migración de células granulares y la diferenciación terminal de las células de Purkinje.¹¹ La causa predominante del HCP es la disgenesia tiroidea (80-90%) en la que se encuentran la agenesia de la glándula tiroidea (atireosis), la ectopía y la hipoplasia.¹² En la mayoría de los casos la etiología es desconocida, pero en algunos pacientes el HCP está asociado a mutaciones en los genes responsables del desarrollo de las células foliculares tiroideas, del receptor de TSH y de los factores de transcripción TTF-1, TTF-2 y PAX-8.¹³⁻¹⁵ El resto corresponde a anomalías relacionadas con los componentes proteicos de la hormonogénesis tiroidea: mutaciones genéticas que afectan las proteínas involucradas en el transporte de yodo: NIS y pendrina, tiroglubulina y enzima tiroperoxidasa, que originan un amplio espectro de bocio congénito transmitido en forma autosómica recesiva.¹⁶⁻¹⁹ La incidencia del HCP comunicada internacionalmente es de 1:3 000-1:4 000 en recién nacidos (RN) en zonas sin déficit de yodo.²⁰

El HCP transitorio es más frecuente en zonas donde hay deficiencia endémica de yodo mientras que en zonas sin carencia de yodo las causas más comunes son: la ingesta materna de anti-tiroideos, bociógenos y compuestos yodados,²² el pasaje de anticuerpos anti-receptor de TSH maternos,²³ la absorción subcutánea de yodo²⁴ y el síndrome de Down.²⁵ Los objetivos de esta presentación son: conocer la prevalencia de HCP en nuestro hospital estudiada en un período de 18 años, la determinación de los puntos de corte de los valores de TSH neonatal en la prematuridad y según el día de obtención de la muestra en los neonatos nacidos a término.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población

Estudiamos 37 750 neonatos nacidos en las maternidades del Hospital Italiano de Buenos Aires y de San Justo. Los pacientes diagnosticados con HCP fueron clasificados según se considere la causa de hipotiroidismo como: *Definitivo*: pacientes con evidencia de disgenesia tiroidea, requerimiento de dosis crecientes de levotiroxina o evidencias bioquímicas de hipotiroidismo al suspender la medicación sustitutiva.

Transitorio: pacientes que no muestran evidencias bioquímicas de hipotiroidismo luego de suspensión de medicación sustitutiva.

No confirmados: no cumplen aún los criterios anteriores o se ha interrumpido su seguimiento.

MATERIALES

Entre los años 1989 y 1994 se utilizó sangre de cordón

obtenida de la muestra de rutina para la determinación de VDRL. Desde el año 1994 hasta fines de 1998 se obtuvo sangre del talón y a partir de esa fecha por venipuntura de la mano, con la que se impregna papel del filtro S&S 903. Este tipo de muestra se conoce con el nombre de spot. Se obtiene habitualmente en el momento del alta.

Durante el período comprendido entre los años 1994 y 1996 las muestras se derivaron a la Fundación Endocrinológica Infantil (FEI).

Los neonatos cuyos valores de TSH se hallaron por encima del valor de corte correspondiente fueron citados materiales para obtener una muestra de sangre por venipuntura.

MÉTODOS

En todas las muestras de cordón y *spot* se midió TSH por radioinmunoensayo (RIE) por método de doble anticuerpo, desarrollado en nuestro laboratorio. Coeficiente de variación intraensayo e interensayo: 5.0% y 10.0%, respectivamente. Los estándares de TSH humana (80/558) se diluyen en glóbulos rojos lavados con solución salina, llevados posteriormente a un hematocrito del 55%. Se utiliza un anticuerpo comercial. El estándar de TSH, para trazador, se marca con ¹²⁵I según la técnica de Greenwood FC y cols.²⁶ Las muestras de papel de filtro se cortan en discos de 4.76 mm de diámetro, los que permanecen en los tubos durante todo el ensayo. Se procesan por duplicado. Los valores de TSH se expresan en μ U/mL de suero eluido del *spot*.

Desde el año 1997 participamos en el control de calidad internacional provisto por el Programa de Calidad de Pesquisa Neonatal del Centro para Control y Prevención de Enfermedades (CDC), Atlanta, Estados Unidos.

Los pacientes con resultados de TSH por encima del punto de corte correspondiente son citados y se les determina TSH y tiroxina (T4) séricas por inmunoensayo enzimático con micropartículas (MEIA) e inmunoensayo de polarización fluorescente (FPIA), respectivamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se efectuaron las pruebas no paramétricas Mann-Whitney para comparación entre dos grupos, Kruskal-Wallis para más de dos grupos y prueba de Dunn para comparaciones múltiples.

RESULTADOS

Prevalencia

En los 37 750 neonatos evaluados entre 1989 y 2007 se hallaron veinticinco casos de HCP.

De los veinticinco pacientes, ocho presentaban comorbilidades significativas: dos neonatos eran portadores de síndrome de Down; dos fueron sometidos a cirugía por cardiopatía congénita; tres eran prematuros extremos, dos de

los cuales fallecieron durante el período neonata,¹ y uno prematuro con mielomeningocele.

Diez de los veinticinco fueron considerados como portadores de HCP definitivo (HCPD). Dos pacientes (uno de ellos prematuro, el otro con antecedentes de tiroiditis materna) presentaron HCP transitorio y trece pacientes no pudieron ser confirmados (dos fallecidos, cuatro perdidos en su seguimiento y siete pacientes menores de 2 años de vida en quienes no se realizaron aún los estudios correspondientes luego de suspensión de medicación sustitutiva). Resultó por lo tanto una prevalencia de HCP definitivo de 1:3 775.

Entre los pacientes con HCPD, ocho presentaron disgenesias tiroideas: cuatro tiroides sublinguales, dos hemitiroides, una tiroides rudimentaria y una disgenesia asociada a síndrome de Down. Los dos pacientes restantes tenían tiroides *in situ* ecográfica y centellográficamente normales. En la tabla 1 se puede observar la edad al inicio de la medicación sustitutiva y los valores de TSH y T4 en el momento de la confirmación diagnóstica.

EVALUACIÓN DEL PREMATURO

Se compararon los valores de TSH de 485 neonatos prematuros y 8292 neonatos nacidos a término, entre los años 2001 y 2004.

Se hallaron valores de TSH significativamente más bajos en el grupo de prematuros ($p < 0.001$) (Tabla 2).

Se determinaron los puntos de corte para el valor de TSH con los percentilos 97,5: 21.8 $\mu\text{U/mL}$ y 28.5 $\mu\text{U/mL}$ para los neonatos prematuros y los nacidos a término, respectivamente.

Tabla 1. Edad al inicio de la medicación sustitutiva y valores de TSH y T4 en el momento de la confirmación diagnóstica

	mediana	rango
Edad al inicio de la medicación sustitutiva (días)	12.0	7-40
TSH al momento de la confirmación ($\mu\text{U/mL}$)	53.7	19.0-368.0
T4 al momento de la confirmación ($\mu\text{g/dL}$)	8.1	1.5-14.4

Tabla 2. Comparación de los valores de TSH en neonatos prematuros y a término.

TSH $\mu\text{U/mL}$	Prematuros n=485	A término n=8292
Mediana	6.8*	9.4
Percentilo 97.5	21.8	28.5

* $p < 0.001$

VALORES DE TSH EN NEONATOS DADOS DE ALTA ANTES DE LAS 48 HORAS DE EDAD

Evalúamos 148 recién nacidos a término (RNT) a quienes se les dio de alta tempranamente, o sea antes de las 48 horas de vida, correspondientes al 3,6% de los RTN entre septiembre de 1999 y junio de 2001. Se compararon con 3084 RNT dados de alta entre los dos y siete días de vida durante el mismo período. Hallamos que los niveles de TSH fueron significativamente más altos en el primer grupo ($p < 0.001$) (Tabla 3).

Se determinaron los puntos de corte para el valor de TSH con los percentilos 97,5: 35.3 $\mu\text{U/mL}$ y 25.0 $\mu\text{U/mL}$ para el alta temprana y el alta entre dos y siete días, respectivamente.

VALORES DE TSH EN NEONATOS DADOS DE ALTA A LOS DOS Y CUATRO DÍAS

Para su obtención analizamos los valores de TSH de 1985 RNT en muestras obtenidas a los dos y cuatro días de vida, en el período comprendido entre abril de 1997 y febrero de 1999. Hallamos que los niveles de TSH fueron significativamente más altos a los cuatro días, respecto a los dos días ($p < 0.001$) (Tabla 4).

Se determinaron los puntos de corte para el valor de TSH con los percentilos 97,5: 25.4 $\mu\text{U/mL}$ y 22.5 $\mu\text{U/mL}$, para dos y cuatro días, respectivamente.

FALSOS POSITIVOS

El porcentaje de falsos positivos es el porcentaje de niños citados, por presentar valores de TSH neonatal por encima del punto de corte, que no se confirman en una segunda determinación. Constituyen la mayoría de las recitacio-

Tabla 3. Valores de TSH al alta temprana y entre 2 a 7 días de edad en recién nacidos a término.

TSH $\mu\text{U/mL}$	Alta temprana n= 148	2 a 7 días n= 3084
Mediana	13.3 *	8.9
Percentilo 97.5	35.3	25.0

* $p < 0.001$

Tabla 4. Variación del valor de TSH según el día de vida al momento de la toma de muestra en recién nacidos a término (RNT).

Días de vida al momento de la toma de muestra en RNT		
TSH $\mu\text{U/mL}$	2 (n= 1833)	4 (n=162)
Mediana	9,7*	7,3
Percentilo 97.5	25.4	22.5

* $p < 0.001$

nes cuya mínima proporción corresponde a los HCP transitorios. En el año 1989 el porcentaje de recitación fue de 7.48%, en el año 1997 de 3.0%, actualmente es de 0.65% correspondiendo a una disminución del 91.3% con respecto al inicio del programa (Fig. 1).

DISCUSIÓN

El HCP es un defecto metabólico usualmente inaparente en el momento del nacimiento, que puede ser rápida y certeramente detectado y para el que existe un tratamiento eficaz y económicamente accesible.

Los estudios multicéntricos muestran una clara relación inversa entre la edad en el momento del inicio del tratamiento y el coeficiente intelectual.⁸

Por estas razones se ha implementado su pesquisa neonatal masiva en numerosos países desarrollados y en países emergentes.

El programa de *screening* neonatal comenzó en la década de 1960 a partir de la creación de R. Guthrie y col. de un test para la determinación neonatal de fenilcetonuria (PKU) y del desarrollo de un novedoso y eficaz sistema de almacenamiento y transporte de muestras de sangre consistente en la recolección de una gota de sangre de talón del neonato sobre papel de filtro (*spot*).²⁷

El éxito del programa de detección de PKU y la disponibilidad de métodos de radioinmunoensayo muy sensibles para la medición de T4 y TSH prepararon el terreno para la evaluación tiroidea de los recién nacidos. En 1974, J. H. Dussault y cols. comenzaron en Quebec el primer programa de pesquisa masivo con la medición de T4.²⁸ En el mismo año A. H. Klein y cols., en Pittsburg, dosaron TSH en sangre de cordón en 25 450 RN y comunicaron una prevalencia de HCP de 1:8500.⁴

En Buenos Aires, durante 1985, C. Bergada y cols. co-

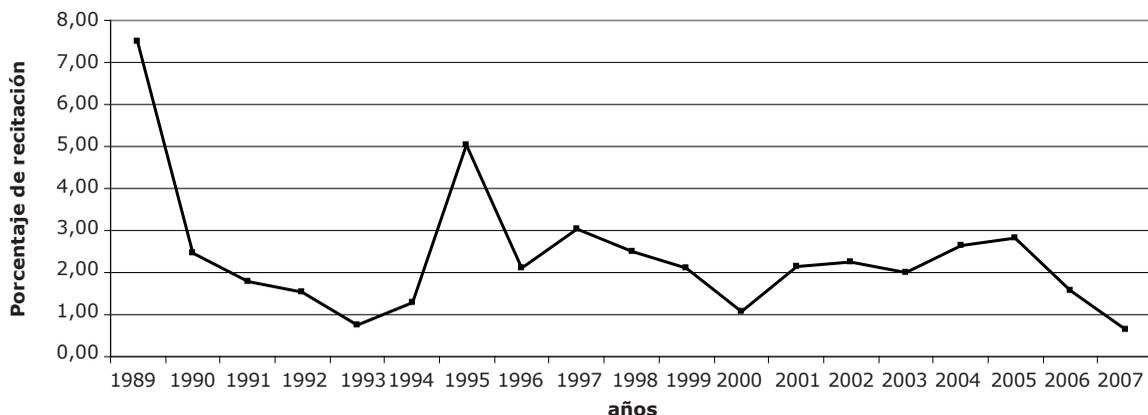
menzaron la pesquisa en una población de recién nacidos de riesgo.²⁹

En nuestro país, Gruñeiro Papendieck y col. encontraron, a fines de 1997, una prevalencia de 1:3026 sobre 214 916 RN.³⁰ En septiembre del 2006, el Programa de Pesquisa Neonatal (PPN) dependiente del gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (GCBA), comunicó una prevalencia de 1:1872 sobre 157 289 RN en el período comprendido entre 1/12/2000 y 31/3/2006.³¹ Esta prevalencia es mayor que la reportada a nivel mundial. Los autores refieren que este dato sería de gran importancia para la investigación de la etiología subyacente así como su aplicación a políticas de salud, pero no mencionan el posible origen de tal divergencia que, entre otras causas, podría deberse a la inclusión de HCP no confirmados.

La prevalencia hallada en nuestro hospital (1/3775) se encuentra más próxima a la encontrada por Gruñeiro Papendieck y cols. y a las grandes series internacionales.

En ocho de los diez pacientes con HCPD, los estudios por imágenes realizados permitieron determinar su etiología. La mayoría de estos pacientes presentaban patología malformativa de la glándula tiroidea (80%). Los pacientes, cuya ecografía y el centellograma mostraban tiroides ortotópica y de tamaño adecuado, probablemente sean portadores de desórdenes funcionales de la síntesis tiroidea aun cuando ninguno de ellos se presentó con bocio o tenía antecedentes familiares de hipotiroidismo congénito. En los recién nacidos prematuros, la interpretación de los valores de TSH pueden ser confusos pues pueden ocurrir simultáneamente cambios tanto en el eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo como en las proteínas que unen T4 circulante.³² Estos neonatos presentan una elevación posnatal de TSH y aumento de T3 y T4 séricas, que son cualitativamente iguales pero cuantitativamente menores que en

Figura 1. Porcentaje de recitación durante el período 1989-2007.



Entre 1989 y 1994 se utilizó sangre de cordón, entre 1994 y 1996 (*) las muestras se derivaron fuera del hospital, entre 1998 y 2007 se utilizó sangre impregnada en papel de filtro.

los nacidos a término, de lo que resultan valores de TSH circulante significativamente menores.³³ Nuestros resultados concuerdan con lo comunicado por otros autores.³⁴⁻³⁶ Los niveles de TSH circulante aumentan significativamente en el posparto inmediato y representarían así un mecanismo de adaptación al estrés del nacimiento, incluidos los cambios en la presión de oxígeno y la temperatura ambiente, llegando a valores máximos a los 30 minutos para luego comenzar a descender. Después de las primeras horas, los niveles decrecen con más lentitud y alcanzan valores más estables a las 48 horas. Por ese motivo la pesquisa se realiza luego de las 48 horas, a fin de no ocasionar falsos positivos. Por otro lado, la tendencia actual en el mundo es el alta temprana de las maternidades, cuando los valores de TSH del neonato aún están elevados. La toma de muestra antes de las 48 horas deriva en un aumento de los falsos positivos, que además de preocupar a los padres podría disminuir la credibilidad del programa. Frente a este hecho y ante el riesgo de que el neonato no concorra para la toma de la muestra, Gruñeiro y cols. analizaron los valores de TSH obtenidos cada seis horas durante las primeras 48 horas de vida y sobre la base de sus resultados recomiendan ajustar el punto de corte cuando la muestra se obtiene antes de las 24 horas de vida.³⁷ En nuestro hospital, hemos obtenido un punto de corte para la población de recién nacidos dados de alta antes de las 48 horas.³⁸ contribuyendo con esto a la disminución del porcentaje de recitación.

Respecto de los valores de TSH obtenidos en diferentes momentos luego de los dos días de vida, también obtuvimos puntos de corte adecuados, que disminuyen a medida que aumentan los días de vida.³⁵ Boquete y cols. hallaron que niveles de TSH del adulto se alcanzan entre los 30 y 60 días, cuando se establece el ritmo circadiano de TSH.^{39,40} El mecanismo responsable de esta reducción de TSH no está claro, pero se relacionaría con un ajuste en la sensibilidad para la retroalimentación negativa por T3 del eje hipotálamo-hipofisario.⁴¹

Actualmente los padres cuyos neonatos presentan valores de TSH elevados son citados desde nuestro Laboratorio con la colaboración del Servicio de Neonatología. Se obtiene una muestra de sangre en la que se mide TSH y T4 y con estos resultados son derivados a los endocrinólogos pediatras en el mismo día. El haber obtenido puntos de corte para los distintos días de vida al alta ha contribuido a disminuir el número de falsos positivos y por ende el índice de recitación. La pesquisa de enfermedades congénitas se incluye dentro de las acciones de la medicina preventiva. El diagnóstico neonatal de hipotiroidismo junto con el de hiperplasia suprarrenal congénita, que también realizamos en este Laboratorio, forman parte del programa de pesquisa neonatal destinado a otorgar a todos los recién nacidos mejores oportunidades de crecimiento y desarrollo. Los resultados obtenidos avalan el esfuerzo que comenzó en el año 1989, siete años antes de la resolución de la obligatoriedad de la ley de pesquisa.

BIBLIOGRAFÍA

- Glorieux J, Dussault JH, Morissette J, et al. Follow-up of ages 5 and 7 years on mental development in children with hypothyroidism detected by Quebec Screening Program. *J Pediatr.* 1985;107(6):913-5.
- Neonatal hypothyroidism screening: status of patient at 6 years of age. New England Congenital Hypothyroidism Collaborative. *J Pediatr.* 1985;107(6):915-9.
- Werner SC, Ingbar SH, Braverman LE, et al, editors. *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 973-83.
- Klein AH, Agustin AV, Foley TP Jr. Successful laboratory screening for congenital hypothyroidism. *Lancet.* 1974;2(7872):77-9.
- Fisher DA. Clinical review 19: Management of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(3):523-9.
- Grüters A, Delange F, Giovannelli G, et al. Guidelines for neonatal screening programmes for congenital hypothyroidism. Working group on congenital hypothyroidism of the European Society for Paediatric Endocrinology. *Eur J Pediatr.* 1993;152(12):974-5.
- American Academy of Pediatrics AAP Section on Endocrinology and Committee on Genetics, and American Thyroid Association Committee on Public Health: Newborn screening for congenital hypothyroidism: recommended guidelines. *Pediatrics.* 1993;91(6):1203-9.
- Newborn screening fact sheets. American Academy of Pediatrics. Committee on Genetics. *Pediatrics.* 1996;98(3 pt 1):473-501.
- Sociedad Argentina de Pediatría. Comité de Endocrinología. Recomendaciones para los programas de pesquisa neonatal de hipotiroidismo congénito. *Arch Argent Pediatr.* 2000;98(4):244-6.
- Lorenzo PI, Ménard C, Miller FD, et al. Thyroid hormone-dependent regulation of α -tubulin during brain development. *Mol Cell Neurosci.* 2002;19(3):333-43.
- Strait KA, Schwartz HL, Seybold VS, et al. Immunofluorescence localization of thyroid hormone receptor protein beta 1 and variant alpha 2 in selected tissues: cerebellar Purkinje cells as a model for beta 1 receptor-mediated developmental effects of thyroid hormone in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(9):3887-91.
- Deladoëy J, Bélanger N, Van Vliet G. Random variability in congenital hypothyroidism from thyroid dysgenesis over 16 years in Québec. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(8):3158-61.
- Sunthornthepvarakui T, Gottschalk ME, Hayashi Y, et al. Brief report: resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med.* 1995;332(3):155-60.
- Kimura S. Thyroid-specific enhancer-binding protein: role in thyroid function and organogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* 1996;7(7):247-52.
- Mansouri A, Chowdhury K, Gruss P. Follicular cells of the thyroid gland require Pax8 gene function. *Nat Genet.* 1998;19(1):87-90.
- Levy O, Ginter CS, de la Vieja A, et al. Identification of a structural requirement for thyroid Na⁺/I⁻ symporter (NIS) function from analysis of a mutation that causes human

- congenital hypothyroidism. *FEBS Lett.* 1998;429(1):36-40.
17. Everett IA, Glaser B, Beck JC, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997;17(4): 411-22.
 18. van de Graaf SA, Cammenga M, Ponne NJ, et al. The screening for mutations in the thyroglobulin cDNA from six patients with congenital hypothyroidism. *Biochimie.* 1999;81(5):425-32.
 19. Bikker H, Bakker E, Vulsma T, et al. Identification of two novel mutations in the TPO gene of patients with severe congenital hypothyroidism due to a total iodide organification defect frequency of TPO inactivating mutations. *J Endocrinol Invest.* 1998; 21:82-8.
 20. American Academy of Pediatrics, Rose SR; Section on Endocrinology and Committee on Genetics, American Thyroid Association, et al. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics.* 2006;117(6): 2290-303.
 21. Burrow GN, Dussault JH, DeLange F, editors, et al. Neonatal thyroid screening. New York: Raven Press; 1980.p. 107-31.
 22. Carswell F, Kerr MM, Hutchison JH. Congenital goitre and hypothyroidism produced by maternal ingestion of iodides. *Lancet.* 1970;1(7659):1241-3.
 23. Brown RS, Keating P, Mitchell E. Maternal thyroid-blocking immunoglobulins in congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70(5):1341-6.
 24. Chabrolle JP, Rossier A. Goitre and hypothyroidism in the newborn after cutaneous absorption of iodine. *Arch Dis Child.* 1978;53(6):495-8.
 25. Jaruratanasirikul S, Patarakijvanich N, Patanapisarnsak C. The association of congenital hypothyroidism and congenital gastrointestinal anomalies in Down's syndrome infants. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1998;11(2):241-6.
 26. Greenwood FC, Hunter WM, Glover JS. The preparation of I-131-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem J.* 1963;89:114-23.
 27. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics.* 1963;32:338-43.
 28. Dussault JH, Coulombe P, Laberge C, et al. Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism. *J Pediatr.* 1974;86(5):670-4.
 29. Gruñeiro de Papendieck L, Iorcansky S, Rivarola MA, et al. Detección temprana de hipotiroidismo congénito en una población de recién nacidos de riesgo. *Arch Argent Pediatr.* 1985;83(2):77-83.
 30. Gruñeiro de Papendieck L, Chiesa Rubio A, Prieto L, et al. Pesquisa neonatal de hipotiroidismo congénito en la Argentina: análisis sobre medio millón de niños estudiados. *Rev Hosp Niños B.Aires.* 1997;39(175):339-44.
 31. Glikman P, Sobrado P, Aranda C, et al. Programa de Pesquisa Neonatal (PPN) del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires (GCBA): Experiencia en la detección de las enfermedades endócrinas hipotiroidismo congénito (HC) e hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) [resumen]. 6to Congreso de FASEN; 2006, Sept. 6-9; San Miguel de Tucumán, Argentina. No. 50.
 32. Murphy N, Hume R, van Toor H, et al. The hypothalamic-pituitary-thyroid axis in preterm infants; changes in the first 24 hours of postnatal life. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2824-31.
 33. Adams LM, Emery JR, Clark SJ, et al. Reference ranges for newer thyroid function test in premature infants. *J Pediatr.* 1995;126(1):122-7.
 34. Balzaretto M, Cabezón C, Lisdero MJ, et al. Variación de los valores de TSH en recién nacidos normales a término (RNNT) o pretérmino (RNNPT) y según día de toma de muestra en (RRNN) [resumen]. 11vo Congreso de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo. *Rev Argent Endocrinol Metab.* 1999;36(supl): 89.
 35. Fuse F, Shimizu M, Uga N, et al. Maturation of feedback control of thyrotropin in premature infants. *J Dev Physiol.* 1990;14(1):17-22.
 36. Ballard PL, Ballard RA, Ning Y, et al. Plasma thyroid hormones in premature infants: effect of gestational age and antenatal thyrotropin-releasing hormone treatment. TRH Collaborative Trial Participants. *Pediatr Res.* 1998;44(5):642-9.
 37. Gruñeiro de Papendieck, Chiesa A, Prieto L, et al. Early newborn screening for congenital hypotiroidism: TSH levels in the first 48 h of life. *Screening.* 1995;4:149-54.
 38. Balzaretto M, Fernández Gianotti T, Kozak A, et al. Incidencia del alta temprana en los valores de TSH para descarte de hipotiroidismo congénito (H.C.) [resumen]. 12vo Congreso de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo. *Rev Argent Endocrinol Metab.* 2001;38(supl):168.
 39. Boquete HR, Sequeda AM, Celadilla ML, et al. Immunoradiometric assay of thyrotropin during the first six months of life. *Horm Res.* 1994; 41(5-6):222-4.
 40. Mantagos S, Koulouris A, Makri M, et al. Development of thyrotropin circadian rhythm in infancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(1):71-4.
 41. Werner SC, et al, editors. *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 960-72.