

Ipotiroidismo congenito: aspetti metabolici e screening neonatale

MARIELLA CARTA SORCINI, SILVIA TOMARCHIO, LUCIA FIORE e SALVATORE CARTA

Laboratorio di Patologia non Infettiva, Istituto Superiore di Sanità

INTRODUZIONE

L'ipotiroidismo è una delle più frequenti malattie endocrine dell'età evolutiva. In Europa, su 1.276.000 neonati sottoposti a *screening*, fino all'agosto 1979, è stata determinata una incidenza pari a 1/3980 (*). Una incidenza, quindi, notevolmente più elevata di quella osservata per un'altra alterazione congenita del metabolismo, la fenilchetonuria [1] per la cui diagnosi precoce sono da anni condotti *screenings* di massa in tutto il mondo.

La forma congenita di ipotiroidismo è la più frequente e la più importante in quanto è causa di grave ritardo mentale, se la terapia sostitutiva non viene applicata tempestivamente.

Dal 1973 sono state condotte numerose indagini e *screenings* sistematici, per la diagnosi precoce dell'ipotiroidismo congenito in varie parti del mondo [2-6]. L'attuazione di tali programmi ha contribuito notevolmente ad aumentare le conoscenze relative alla fisiopatologia tiroidea nel neonato.

Recentemente anche in Italia indagini pilota relative allo *screening* per l'ipotiroidismo congenito sono in corso di realizzazione a livello regionale.

Il Laboratorio di Patologia non Infettiva dell'Istituto Superiore di Sanità, dall'inizio del 1978, sta conducendo, in collaborazione con varie Unità Pediatriche, un programma di ricerca che si propone, mediante l'attuazione di una indagine pilota su un numero adeguato di campioni, di contribuire ad approfondire le conoscenze nei seguenti settori: frequenza di ipotiroidismo congenito in Italia; incidenza relativa delle forme primarie o secondarie a lesione ipotalamo-ipofisaria; particolarità della funzione tiroidea nei prematuri; reale possibilità di una terapia immediata. L'indagine pilota prevede, inoltre, di fare una verifica della strategia operativa dello *screening* e di dare una valutazione epidemiologica dei risultati.

Lo scopo di questa rassegna è di esporre brevemente gli aspetti clinici e metabolici dell'ipotiroidismo congenito e di riassumere le conoscenze attuali riguardanti lo *screening* per la diagnosi precoce di tale malattia nel neonato.

(*) Dati riferiti all'International Conference on Neonatal Thyroid Screening, Quebec (Canada), settembre 1979, da F. Delange, St. Pierre Hospital, Bruxelles.

Regolazione della funzione tiroidea

Gli ormoni tiroidei sono molecole strutturalmente ben definite, capaci di regolare, attraverso l'azione esercitata sul metabolismo intermedio glicidico, lipidico e proteico, la differenziazione, la maturazione e l'accrescimento di quasi tutti gli organi e apparati.

La risposta, sia metabolica che morfologica, varia in rapporto agli attributi funzionali delle singole cellule specificamente stimulate dal messaggero ormonale, in relazione alla loro differenziazione e in dipendenza della loro espressione genetica.

L'influenza degli ormoni tiroidei sull'apparato scheletrico e sul sistema nervoso centrale è chiaramente comprovata dall'osservazione che al deficit tiroideo precocemente instauratosi corrisponde un ritardo dell'accrescimento e un'alterazione irreversibile dello sviluppo del sistema nervoso (ipotiroidismo congenito).

La funzione della tiroide è regolata da più di un meccanismo tendenti a mantenere costante il livello degli ormoni circolanti. In particolare, esiste un sistema di controregolazione collocato a livello dell'asse ipotalamo-ipofisario e un sistema di autoregolazione intrinseco alla ghiandola tiroidea che consente di stabilire un rapporto inversamente proporzionale tra iodio organico intraghiandolare e processi di ormonogenesi.

Considerando la spiccata sensibilità della secrezione ormonale alle brusche oscillazioni del substrato, cioè lo iodio, e considerando che, rispetto alle altre molecole ormonali, gli effetti metabolici degli ormoni tiroidei sono meno intensi e più a lungo protratti, si comprende l'importanza di meccanismi omeostatici che, piuttosto che compensare le possibili variazioni dovute alle esigenze periferiche, prevengono le oscillazioni del ritmo secretivo.

A tale scopo, l'accumulo ormonale nella cavità follicolare della ghiandola esercita un'importante funzione tamponante nei casi di brusche variazioni della sintesi di ormoni tiroidei, conseguenti ad un incostante apporto iodico.

I meccanismi di autoregolazione della tiroide garantiscono una costante disponibilità di ormoni all'interno della ghiandola, mentre il meccanismo di controregolazione sull'asse ipotalamo-ipofisario controlla le variazioni dei livelli periferici degli ormoni tiroidei e l'entità del loro effetto metabolico sugli organi bersaglio.

Nella Fig. 1 viene illustrato schematicamente il rapporto funzionale tra ipotalamo, ipofisi anteriore e tiroide, nonché il meccanismo di controllo di tipo *feed-back* esercitato da quest'ultima sull'asse ipotalamo-ipofisario.

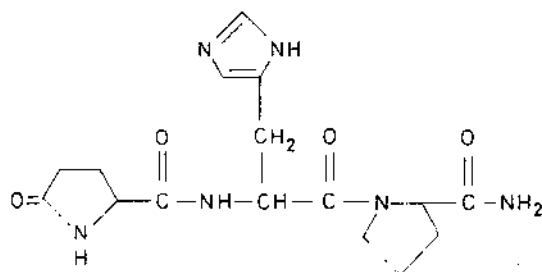
Il sistema ipotalamico e quello ipofisario, date le loro connessioni anatomiche funzionali e dato il convergere delle loro attività coordinatrici, si considerano un complesso funzionale unitario, il complesso neuroendocrino [7]. Tale complesso, che ha nell'ipotalamo il proprio nucleo operativo, è dotato

di attività nervosa e al tempo stesso secretrice per la presenza di fibre neurosecretrici in grado di sintetizzare specificamente e liberare sostanze ormonali quali i *releasing factors*, al pari delle cellule endocrine di natura non nervosa.

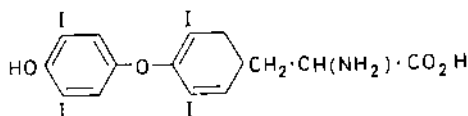
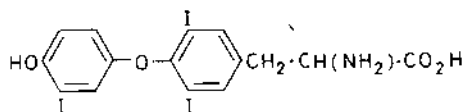
L'ormone specifico che presiede al controllo della increzione tireotropinica, il TRH (Thyrotropin-Releasing Hormone) liberato dall'ipotalamo viene trasportato nella adenoipofisi dove provvede a regolare l'attività di secrezione tireotropinica.

Come gli altri fattori di liberazione ipotalamici, il TRH è costituito da una piccola molecola identificabile con un tripeptide. L'azione di stimolazione sull'ormone tireotropo, esercitata dal TRH, è rapida e viene inibita dalle iodotirosine.

Thyrotropin releasing hormone (TRH)

(Piro) Glu-Ist-Pro (NH₂)

Il *feed-back* negativo del T₃ (triiodotironina) e del T₄ (tetraiodotironina) sulla secrezione tireotropinica potrebbe essere dovuto all'induzione di una proteina o di un peptide che inibirebbe l'azione del TRH, che normalmente comporta la secrezione di tireotropo.

Tetraiodotironina (T₄)Triiodotironina (T₃)

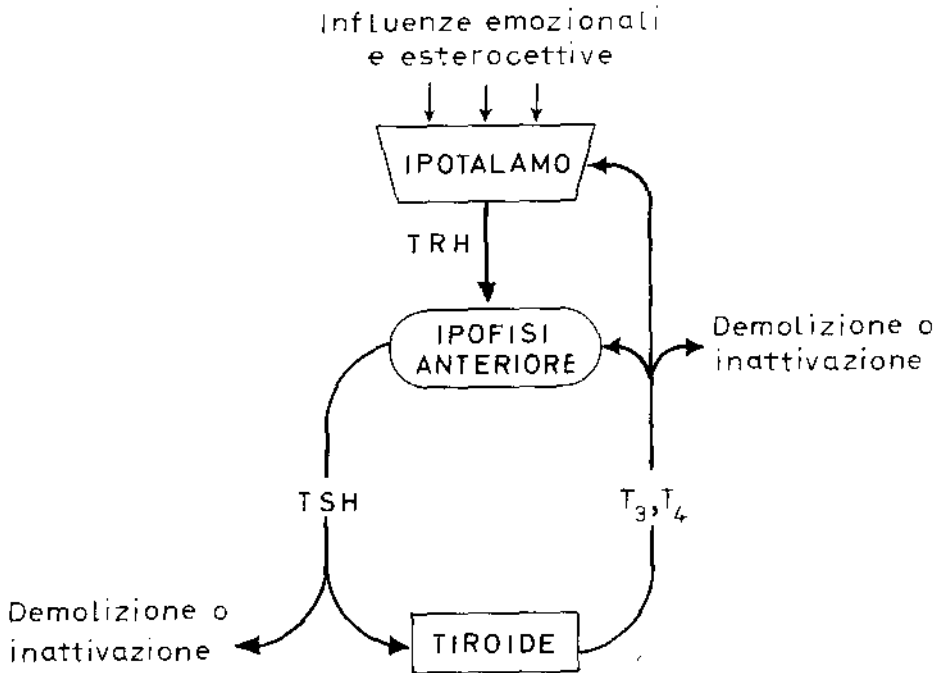


Fig. 1. — Rappresentazione schematica del rapporto funzionale tra ipotalamo, ipofisi e tiroide e del controllo di tipo *feed-back* esercitato dagli ormoni tiroidei.

Si pensa che il TRH eserciti la sua specifica azione agendo selettivamente sui recettori specifici di membrana delle cellule tireotrope e attivando successivamente il sistema adenilato ciclasi-AMP ciclico [8]. Il TSH (Thyroid Stimulating Hormone) viene liberato da un *pool* preesistente e il TRH non stimola né la sintesi di TSH né quella di altri enzimi, come è dimostrato dal fatto che i normali inibitori della sintesi proteica non inibiscono la sua azione [8].

La sintesi e l'incremento del TRH può essere regolata anche da un meccanismo di controregolazione distinto da quello esercitato dalle iodotironine e che viene attuato direttamente dal TSH [9].

La tiroide, in assenza di tireotropo, è quasi completamente inattiva, mentre in presenza di quantità anche minime di ormone ipofisario si hanno molteplici variazioni morfologiche e funzionali della ghiandola.

Il TSH può essere considerato il principale regolatore dell'attività tiroidea, anche se non tutte le variazioni della funzione tiroidea sono da riportare a oscillazioni del tasso di TSH.

Il tireotropo è una glicoproteina sintetizzata e secreta da specifiche cellule basofile dell'adenipofisi, ha un peso molecolare intorno a 25.000 e il suo

contenuto in carboidrati si aggira intorno all'8 %. La molecola è costituita da due catene proteiche, la catena alfa e la catena beta, la cui struttura primaria è ormai nota [10]. Le due catene pur avendo una composizione aminoacidica analoga differiscono per sequenza, peso molecolare e contenuto in carboidrati. La differente struttura dei componenti oligosaccaridici induce a ritenere che le due catene siano sintetizzate in cellule di tipo diverso. Inoltre la somministrazione per via endovenosa del TRH produce la comparsa in circolo di catene alfa secrete dall'ipofisi e non derivate dalla dissociazione dell'intera molecola di TSH [11].

Nonostante che l'ipofisi, mediante la secrezione di TSH, sia il principale regolatore della tiroide, quest'ultima esplica pur sempre una funzione residua in completa assenza di tessuto ipofisario [12]. La ghiandola tiroidea appare morfologicamente atrofica, ma contiene una qualche attività funzionale: cattura lo iodio in quantità pari al 10-25% della ghiandola normale [13], sintetizza la tiroxina anche se tale attività di sintesi è notevolmente rallentata [14].

Sembra ormai accertato che il controllo esercitato dal TSH sulla funzione ormono-secretiva delle cellule tiroidee sia mediato dall'AMP ciclico. L'interazione del TSH con il suo recettore sulla membrana plasmatica comporta la stimolazione dell'adenilato ciclasi che a sua volta produce un aumento dei livelli di AMP ciclico nella cellula tiroidea.

L'ipotesi dell'AMP ciclico quale secondo messaggero ormonale del TSH, proposta da Sutherland [15], prevede l'attivazione di una chinasi costituita da due subunità: una catalitica e una recettrice, la prima è attivata dall'interazione dell'AMP ciclico con la seconda. La chinasi attivata trasferisce il fosfato su substrati specifici della cellula recettrice. I substrati fosforilati attivano dei geni precedentemente repressi, pertanto la specificità della risposta ormonale risiede, in ultima analisi, nelle caratteristiche geniche delle singole cellule bersaglio.

L'azione del TSH si esplica con la stimolazione del fenomeno di endocitosi delle molecole di tireoglobulina attiva depositate nella colloide intracellulare. All'esaltata endocitosi corrisponde un incremento dei fenomeni idrolitici derivanti dalla fusione delle goccioline di colloide con i lisosomi e tale processo comporta una aumentata secrezione di T_3 e T_4 in circolo [16].

Per quanto riguarda gli effetti sul ricambio intermedio della ghiandola è ormai provato che il TSH stimola il metabolismo del glucosio, la sintesi ed il turnover dei fosfolipidi. In particolare viene sintetizzata una lipoproteina che fungerebbe da vettore per il trasporto dello iodio nell'ambito del compartimento ghiandolare.

Il TSH influenza, inoltre, quasi tutte le fasi del metabolismo intraghiandolare dello iodio attivando la «pompa» dello iodio e favorendo l'incorporazione dell'alogeno in molecole organiche.

Infine il controllo omeostatico esercitato dall'ormone tireotropo non si limita alla regolazione della sintesi degli ormoni tiroidei, ma si estende anche alla mobilizzazione delle molecole ormonali depositate nella cavità follicolare.

Alcune recenti acquisizioni sperimentali inducono a ritenere che il tireotropo sia inoltre necessario alla differenziazione morfofunzionale delle cellule tiroidee. Infatti il TSH, al pari dell'AMP ciclico, promuove *in vitro* l'organizzazione di cellule monostratificate in cellule follicolari [17].

La tiroide è l'unico esempio di ghiandola endocrina la cui funzione è controllata sia dal sistema ipotalamo-ipofisario sia da meccanismi intrinseci che ne regolano il ritmo ormono-sintetico e ormono-secretivo soprattutto variando la possibilità e quindi la risposta della ghiandola allo stimolo tireotropinico. Mediante l'intervento di tali meccanismi la tiroide tende a mantenere costante il deposito intraghiandolare dell'ormone, piuttosto che la sua concentrazione periferica. Tale capacità di adattamento è particolarmente efficiente nel rispondere alle variazioni acute e croniche dell'apparato iodico e nel compensare l'azione inibitoria dei farmaci tireostatici.

Alle variazioni dello iodio organico intraghiandolare che si osservano nell'animale ipofisectomizzato, come conseguenza sia di oscillazioni dietetiche che di farmaci tireoinibitori, si accompagnano variazioni di ordine inverso del trasporto attivo dello iodio. Anche le tappe ormono-sintetiche che seguono il trasporto iodico sono controllate dai fenomeni autoregolatori di tipo compensatorio. La risposta tireotropinica è infatti inversamente proporzionale alla quantità di ormone depositato nella ghiandola.

Funzione tiroidea nel feto e nel neonato

La tiroide è la prima ghiandola endocrina che si forma nell'embrione intorno alla quarta settimana di vita come un ispessimento endodermico del pavimento faringeo alla base della lingua, che migra caudalmente e inizia l'organizzazione della struttura follicolare.

Al termine del primo mese di vita intrauterina inizia, da parte del tessuto tiroideo, una modesta capacità di sintesi della tireoglobulina ancor prima dell'inizio manifesto di secrezione del TSH da parte dell'ipofisi fetale. All'ottava settimana nell'ipofisi fetale ha inizio una differenziazione istologica di cellule basofile, responsabili della produzione di TSH e pertanto dalla dodicesima settimana di sviluppo della tiroide l'ipofisi fetale umana sintetizza il TSH. Questo dato fondamentale permette di stabilire un'iniziale relativa indipendenza di sviluppo della tiroide fetale nei confronti dell'azione di stimolo del TSH, indipendenza che cessa dopo la dodicesima settimana di vita, quando ha inizio il *relais* ipofisario. Tale rilievo coincide con la comparsa della funzione iodoconcentrante e tiroxinogenetica. A motivo della relativamente precoce comparsa della funzione iodoconcentrante della tiroide

fetale, questa ha una avidità 20-50 volte superiore a quella della tiroide materna ed a tale esaltata funzione di trasporto corrisponde un rapido ritmo metabolico intraghiandola.

La tiroxina è stata riscontrata nel siero del feto dopo il 78° giorno di sviluppo intrauterino ed è stato rilevato che sia la tiroxina legata che quella libera aumentano in rapporto lineare con il progredire della gestazione, raggiungendo alla 18^a-20^a settimana, livelli sovrapponibili a quelli osservati a termine.

Dopo la ventesima settimana di gestazione si coglie quindi l'inizio di un'iperattività nella ghiandola tiroidea fetale che si mantiene fino al momento della nascita, in conseguenza di un'ipersecrezione di TSH i cui livelli aumentano in quell'epoca fino a raggiungere rapidamente valori superiori di circa tre volte i livelli materni; tali valori si mantengono inoltre fino al termine della gravidanza.

La Thyroxine Binding Globulin (TBG) e la Thyroxine Binding Prealbumin (TBPA) sono presenti sin dalla 12^a settimana di vita fetale ed è stato dimostrato che esse sono qualitativamente identiche a quelle dell'adulto [18].

Per il normale svolgersi dei processi differenziativi nel corso dello sviluppo embriogenetico è necessario lo stimolo iodotironinico, poiché esso agisce elettivamente sui processi accrescitivi e differenziativi.

La tiroide nelle prime fasi del suo sviluppo è priva di proprietà tiroxinogenetiche, è necessario quindi postulare che le esigenze fetali siano soddisfatte da molecole iodotironiniche di origine materna. Infatti è stato ormai definitivamente accertato che le molecole iodotironiniche attraversano la placenta in esigue quantità (10 % circa), e che è maggiormente favorita la filtrazione della molecola triiodotironinica.

Nelle successive fasi dello sviluppo fetale la produzione ormonale da parte del feto, regolata dal controllo tireotropinico, è in grado di garantire un normale sviluppo, indipendentemente dall'apporto materno.

Notevoli differenze nei diversi indici funzionali sono state osservate rispetto ai valori gravidici in coincidenza del parto soprattutto per quanto riguarda il livello di tiroxina sierica [19].

Al momento del parto i valori sierici di T_4 , di T_3 e di RT_3 (Reverse T_3) sono poco correlabili con quelli materni. Il range di normalità è tra 6-17 $\mu\text{g}/\text{dl}$ per il T_4 , 10-90 $\mu\text{g}/\text{dl}$ per il T_3 e 1-20 $\mu\text{U}/\text{ml}$ per il TSH. Si nota che la concentrazione di T_3 nel siero di cordone ombelicale è inferiore ai valori di T_3 dell'eutiroideo adulto, infatti il range normale di T_3 per adulti con normali quantità di TBPA e TBG è tra i 60-160 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Il Reverse T_3 è presente in concentrazione superiore a quella del siero materno. La prevalenza di RT_3 sul T_3 nel feto è stata variamente interpretata, ma sembra molto verosimile che si tratti di una trasformazione, nei tessuti extratiroidei, del T_4 in RT_3 , metabolicamente meno attivo del T_3 , come possibile espressione di una

situazione funzionale maturativa del feto collegata alle sue esigenze metaboliche [20].

La concentrazione di T_4 nel siero di cordone ombelicale è superiore a quella dell'eutiroideo adulto. La spiegazione di ciò sta nel fatto che il metabolismo del T_3 , del RT_3 e del T_4 del feto umano differisce in modo rimarchevole da quello degli adulti [21], e che l'asse ipotalamo-ipofoisi-tiroide fetale è indipendente dal sistema materno e stabilisce il suo *feed-back* con una sensibilità all'ormone tiroideo diversa da quella dell'adulto. Si pensa anche che sia minore nel feto la conversione di T_4 in T_3 a livello periferico che è invece notevole nell'adulto.

I valori di TSH sono normali nel siero di sangue da cordone ombelicale.

Nelle prime 48 ore di vita del neonato si osservano cambiamenti della concentrazione di T_3 , RT_3 , T_4 e di TSH sierici.

La quantità di TSH aumenta notevolmente e si può rilevare una cuspide di 80-90 $\mu\text{U}/\text{ml}$ a 30 minuti dal parto [22] (Fig. 2). Questo brusco aumento è causato dal raffreddamento rapido che subisce il bambino quando è portato nell'ambiente extrauterino. L'ulteriore raffreddamento provoca un aumento supplementare del TSH che descrive così un picco entro le prime due ore di vita [22]. Nelle ore successive si registra una rapida flessione e un graduale ridursi ai valori normali di concentrazione. È stato dimostrato che anche il taglio del cordone ombelicale influenza l'incremento del TSH, a sua volta stimolato dall'esaltata attività del TRH. Infatti al taglio del cordone ombelicale segue una ipotermia transitoria, rapidamente combattuta da un'aumentata termogenesi neonatale. Quindi il taglio del cordone ombelicale stimola il rilascio e la sintesi di catecolamine con successiva mobilitazione e metabolizzazione dei grassi, attiva le idrolasi tirosiniche e stimola la produzione di T_3 e T_4 , reazioni che fanno parte dei meccanismi regolanti l'adattamento del neonato all'ambiente extrauterino.

In associazione con l'incremento di TSH anche le concentrazioni di T_3 e T_4 aumentano nelle prime 24 ore di vita (Fig. 3). Si riscontra un profondo e immediato aumento dei livelli di T_3 che forma un picco a circa 24 ore di vita. Il RT_3 permane a livello fetale nei primi giorni di vita e diminuisce fino a quelli normali verso il 10° giorno [23]. Meno notevoli sono i cambiamenti del T_4 che aumenta lievemente nelle prime 24 ore, sebbene la sua concentrazione sia 2 volte superiore a quella del siero da cordone ombelicale. L'incremento del T_4 è sicuramente TSH dipendente, quello del T_3 sembra dovuto soprattutto all'attivazione postnatale del meccanismo enzimatico che regola la metabolizzazione extratiroidea del T_4 in T_3 .

A 48 ore dal parto la concentrazione sierica del T_3 diminuisce ancora in modo lieve, quella del T_4 resta quasi costante. Probabilmente i livelli di T_3 decrescono meno rapidamente sempre perché una considerevole quantità di T_4 viene metabolizzata a T_3 .

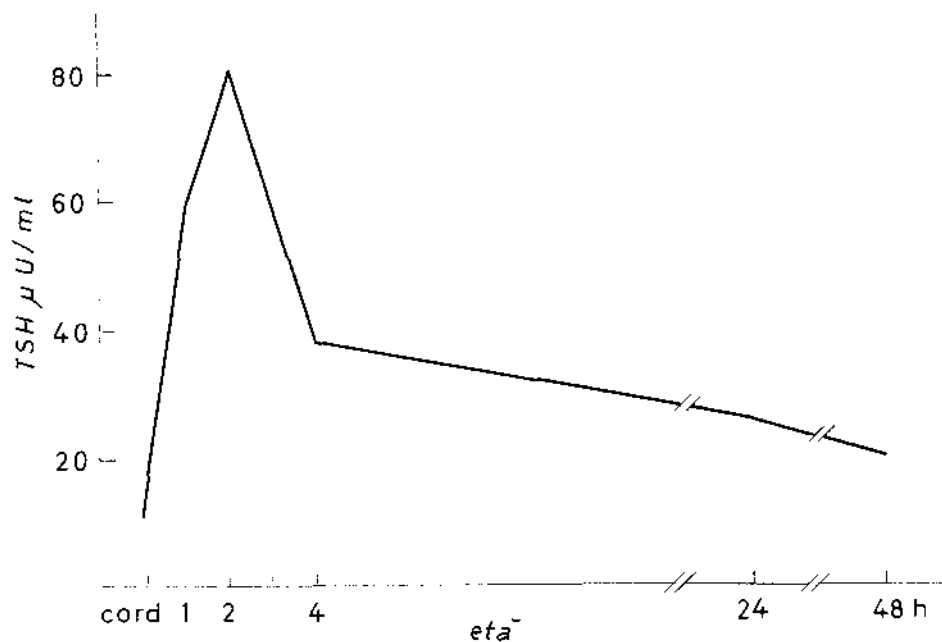


Fig. 2. — Andamento delle concentrazioni sieriche dell'ormone TSH nel neonato, rilevate alla nascita e durante le prime 48 ore di vita extrauterina.

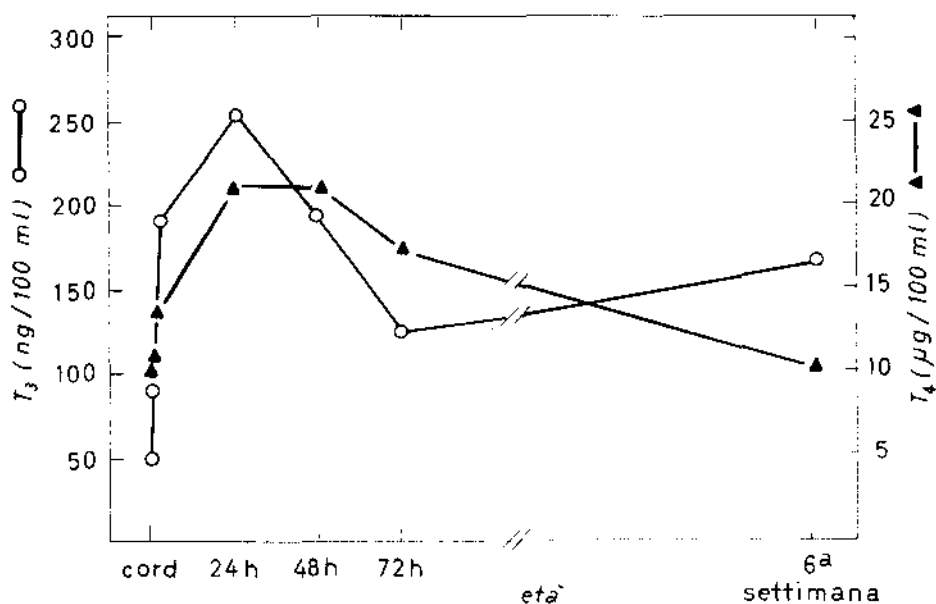


Fig. 3. — Rappresentazione grafica dell'andamento delle concentrazioni sieriche degli ormoni T_3 e T_4 durante le prime 72 ore di vita e a 6 settimane di età.

Dopo il terzo giorno di vita i valori di tiroxina quasi stabilizzati diminuiscono ancora ma in modo blando, mentre i valori di triiodotironina subiscono un lieve aumento anche se si riscontra una stretta correlazione con i valori trovati negli adulti.

Nei neonati a termine ma di peso inferiore alla norma *small for date*, T_4 e T_3 sono inferiori rispetto a quelli a termine di peso normale, ma superiori rispetto ai nati pretermine, con peso appropriato per l'età gestazionale [24]. In conclusione da uno stato che possiamo definire come «ipotiroidismo fisiologico fetale» si passa bruscamente subito dopo il parto, ad una condizione che potrebbe essere considerata di ipertiroidismo, che è più accentuata nei nati a termine che in quelli pretermine e negli *small for date*.

L'insieme di dati e di osservazioni relativi alla funzione tiroidea nel neonato, ha dato un notevole impulso agli studi e alle ricerche riguardanti la diagnosi precoce di ipotiroidismo congenito. Infatti, nelle prime giornate di vita extrauterina, notevoli sono le variazioni dei livelli sierici degli ormoni tiroidei e del tireotropo: la conoscenza di queste ha offerto varie alternative nella scelta della strategia più idonea per la realizzazione della diagnosi precoce di ipotiroidismo congenito.

Ipotiroidismo congenito nel neonato

Per sindrome ipotiroidica si intende qualsiasi stato clinicamente riferibile ad una insufficiente produzione di ormoni tiroidei, sia esso primitivo o secondario, o, più raramente, uno stato ipometabolico dovuto ad una difettosa utilizzazione degli ormoni circolanti [25].

La prima eventualità è caratterizzata da assenza, lesione anatomica o funzionale del tessuto tiroideo. Le possibili cause di questo stato sono: agenesia o disgenesia tiroidea, danno intrauterino, disormonogenesi, tiroidite, cancro della tiroide, malattie extratiroidee e danno iatrogenico.

Le sindromi secondarie sono caratterizzate da insufficiente stimolazione tireotropinica (ipopituitarismo, lesione ipotalamica).

L'instaurarsi di un regime di carenza di ormoni iodati durante lo sviluppo intrauterino e le prime fasi di quello postnatale, compromette la differenziazione scheletrica e nervosa, così che ai classici segni del mixedema si associano lesioni somatiche e psichiche in gran parte irreversibili. Quando i segni della ritardata maturazione somatica e psichica, presenti sin dalla nascita, sono di estrema gravità si parla anche di cretinismo sporadico.

Lo sviluppo del sistema nervoso centrale è un processo articolato che si fonda su eventi di tipo diverso, quali la differenziazione e la proliferazione cellulare, la migrazione delle cellule, la formazione di sinapsi, l'organizzazione della rete neuronale. Tali eventi, che portano alla definizione dell'architettura cerebrale secondo un disegno differenziativo geneticamente controllato, si

svolgono in generale durante il periodo embrionale e neonatale, ma in particolare per l'uomo sono confinati all'inizio della vita postnatale e durano per alcuni mesi dopo la nascita. Durante questo periodo critico di sviluppo del sistema nervoso è determinante la presenza di alcuni fattori, tra cui principalmente gli ormoni tiroidei.

In assenza o carenza di questi ultimi si stabilisce uno stato di ipotiroidismo del neonato che modifica i principali livelli di organizzazione e attività del sistema nervoso, quali struttura e attività elettrica del neurone, mielinizzazione degli assoni, ecc. [26].

Un esame accurato dei dati disponibili suggerisce che l'azione principale degli ormoni tiroidei si esplica a livello della formazione della rete delle connessioni interneuronali. Un esempio significativo è lo sviluppo del cervelletto, in cui la crescita, il numero e l'arborizzazione dei dendriti delle cellule di Purkinje sono nettamente ridotti in assenza di ormoni tiroidei. L'ipotiroidismo ha anche, come conseguenza nel cervelletto, un ritardo notevole della migrazione delle cellule granulari esterne.

La crescita dei neuriti sarebbe pertanto un fattore limitante decisivo dell'architettura cerebrale e agli ormoni tiroidei si pensa spetti il compito di controllo di questo parametro.

La formazione dei neuriti è il risultato del processo di polimerizzazione di strutture più piccole quali i microtubuli. Questi ultimi sono presenti in forma polimerizzata, riconoscibile al M.E. [27-28]. Si ammette l'esistenza di un equilibrio tra tubulina libera e polimerizzata, nonché l'esistenza di forme intermedie agenti come centri di nucleazione che si presentano al M.E. sottoforma di dischi o doppi dischi. Kirschner e Coll. hanno dimostrato che la tubulina polimerizza in presenza di un composto minore, il fattore TAU [29]; l'assenza di quest'ultimo richiede un critico innalzamento della concentrazione di tubulina ai fini di un avvio del processo di polimerizzazione.

Gli ormoni tiroidei potrebbero regolare la concentrazione dell'uno o dell'altro o di ambedue questi parametri. In realtà si è visto che la concentrazione di tubulina non è soggetta al controllo tiroideo [30], mentre è stato accertato che gli ormoni tiroidei eccelerano l'aumento precoce del fattore TAU, rendono la tubulina presente in grado di polimerizzare nel periodo immediatamente successivo alla nascita e quindi probabilmente permettono la crescita dei neuriti nella fase di sviluppo del sistema nervoso centrale [31].

Questi dati confermano che gli ormoni tiroidei sono essenziali per il normale sviluppo e accrescimento del sistema nervoso centrale [32] e che una loro insufficiente produzione provoca un ritardo mentale irreversibile [33-35].

Solamente un trattamento precoce dell'ipotiroidismo può prevenire l'instaurarsi di gravi alterazioni neurologiche e mentali. Recenti dati sembrano confermare tale assunzione. Klein e Coll. [34] hanno, infatti, dimostrato che l'85% dei bambini affetti da ipotiroidismo congenito, trattato con ormoni

tiroidei entro i primi tre mesi di vita, presenta un Q.I. uguale alla norma, mentre un trattamento ritardato dal 3° al 6° mese di vita, provoca il ritardo mentale nell'85% dei soggetti.

Molteplici sono i fattori eziologici dell'ipotiroidismo congenito. La più frequente causa di tale patologia è rappresentata da anomalie nello sviluppo embrionale della ghiandola tiroide che si può definire come ipotiroidismo primario. Tali anomalie possono essere rappresentate da una completa assenza della ghiandola (agenesia) o dalla presenza di abbozzi ghiandolari parzialmente funzionanti (disgenesia). In quest'ultimo caso è possibile riconoscere, ad un attento esame scintigrafico, residui di tessuto tiroideo nella sua normale dislocazione embriogenetica o in sede ectopica. Tali residui di tiroide possono talora presentarsi ipertrofici e quindi compensare, entro certi limiti, la carente funzione ormonogenetica della ghiandola in individui erroneamente ritenuti privi di tiroide.

L'eziologia della disgenesia tiroidea non è del tutto precisata; raramente ha carattere familiare e rara è la consanguineità tra genitori.

La dimostrazione di anticorpi anti-tiroide nel 30% dei sieri di un campione di madri di individui privi di tiroide ha suggerito l'ipotesi che la disgenesia tiroidea possa essere la conseguenza di un movimento immunitario: gli anticorpi materni supererebbero la barriera placentare e lederebbero la tiroide del feto [36]. La validità di questa teoria appare limitata poiché nella gestante la lesione tiroiditica non esclude la possibilità di generare individui eutiroidei e, parallelamente, soggetti con ipotiroidismo disgenetico non presentano movimento autoimmune né nelle loro madri sono riconoscibili anticorpi antitiroide [37].

Ipotiroidismo congenito può prodursi in seguito alla somministrazione alle gestanti, per il trattamento dell'ipertiroidismo o del carcinoma tiroideo, di radioiodio tra il terzo e il quinto mese di gestazione. Anche i farmaci tireostatici, così come lo iodio stabile, possono bloccare l'ormonogenesi del feto e pertanto il loro impiego deve essere rigorosamente controllato onde prevenire il formarsi del gozzo, associato o meno ad ipotiroidismo.

La gravità dell'ipotiroidismo congenito è condizionata dal grado di insufficienza tiroidea del bambino; nella disgenesia il danno somatico e psichico può essere, infatti, meno grave che nell'agenesia tiroidea. Sul piano morfologico nell'agenesia la tiroide è sostituita da tessuto fibroso, mentre nella disgenesia possono riconoscersi in sede ectopica isolotti di tessuto tiroideo funzionante.

Altra causa di ipotiroidismo congenito possono essere i difetti della sintesi e del metabolismo degli ormoni tiroidei.

Studiando casi di gozzo congenito presenti in zone non endemiche [38], si è pensato che il gozzo ipotiroideo potesse dipendere dalla compromissione, geneticamente determinata, di una delle varie fasi della sintesi degli ormoni tiroidei. Non sono stati chiariti i fondamenti biochimici, sinora soltanto sup-

posti, delle varie anomalie che potrebbero intervenire a livello di sintesi, accumulo e secrezione delle molecole ormonali. Nove acquisizioni sono scaturite dallo studio della tireoglobulina e dei suoi processi di sintesi, acquisizioni che consentono di valutare il ruolo della porzione saccaridica della molecola nelle fasi di incorporazione dello iodio. Questa varietà di ipotiroidismo congenito è stata definita come ipotiroidismo da disormonogenesi; esso presenta varie forme a seconda della tappa metabolica compromessa.

In questa patologia il fattore genetico prevale sugli altri, come è suggerito dal fatto che il sesso femminile ne è colpito con frequenza doppia rispetto a quello maschile. La malattia ha caratteristiche autosomiche recessive; allo stato eterozigote può tuttavia presentarsi con sintomi di ipotiroidismo più o meno evidente, anche se il difetto metabolico è parziale.

Se l'alterazione metabolica è presente a livello della pompa dello iodio, la tiroide non capta lo iodio radioattivo anche dopo stimolazione con tireotropo [39]. L'errore genetico potrebbe riguardare tanto il vettore lipoproteico che presiede al trasporto attivo dello ioduro quanto le strutture recettoriali della membrana plasmatica, compromettendo l'attività iodoconcentrante della ghiandola. Tale rara forma di disormonogenesi è accompagnata da gozzo e cretinismo.

Una sindrome meno rara di quella dovuta ad alterazione della pompa dello iodio è quella in cui è compromessa la iodurazione, cioè l'ossidazione dello ioduro. In questo caso lo ioduro non può essere incorporato nei residui tirosinici della molecola di tireoglobulina e si accumula nella ghiandola sottoforma di ione [40]. La trasformazione ossidativa dello iodio nella forma attiva non avviene per insufficienza o totale assenza del sistema perossidasi. In caso di difetto totale del sistema di iodazione si ha la comparsa del gozzo e della sindrome ipotiroidea.

Non si conosce esattamente la trasmissione genetica di questa malattia, ma sembra probabile che si tratti di un carattere autosomico recessivo.

Altra forma di ipotiroidismo da alterazione metabolica è quella in cui è compromessa la sintesi di tiroxina, in particolare è compromesso l'accoppiamento dei residui iodotirosinici. Questi ultimi si accumulano nella tiroide sottoforma di MIT e DIT, come risulta da un'analisi del tessuto tiroideo. La tiroxina non è del tutto assente: se ne trovano piccole quantità in circolo e solo delle tracce all'interno della ghiandola [41]. Si suppone una ereditarietà anche per questo tipo di malattia anche se mancano dati genetici.

Altra sindrome legata al metabolismo degli ormoni tiroidei è quella in cui si ha assenza della desiodasi, enzima microsomiale presente nella tiroide, nel fegato e nel rene, che catalizza specificamente la desiodazione delle iodotirosine dopo che vengono staccate per idrolisi dalla tireoglobulina. Lo iodio che in condizioni normali si libera dalla reazione di desiodazione viene riutilizzato nel processo di sintesi degli ormoni tiroidei, cosa che non avviene in

caso di assenza dell'enzima desiodante a livello dei tessuti periferici. In questo caso le iodotirosine sono eliminate nelle urine senza subire alcuna modificazione metabolica. Si realizza nei pazienti una condizione di gozzo ipotiroidico con elevata captazione di iodio radioattivo.

Infine in alcuni casi di gozzo congenito ipotiroidico si è riscontrato un deficit quantitativo e qualitativo della sintesi di tireoglobulina o della sua porzione saccaridica. La molecola conserva una struttura antigenica normale ma è dotata di una configurazione sterica che non consente un'adeguata incorporazione dello iodio. Vengono pertanto iodate altre proteine secrete in circolo dalla tiroide. Anche in questo caso, la malattia presenta carattere autosomico recessivo.

Una insufficiente secrezione, da parte dell'ipotalamo e dell'ipofisi, rispettivamente di TRH e TSH determina una forma di ipotiroidismo, peraltro piuttosto rara, definita come ipotiroidismo secondario.

Nei neonati il 90% dell'ipotiroidismo congenito è dovuto ad alterazioni primarie della tiroide (agenesia o disgenesia), caratterizzate da un abbassamento del T_4 e da un innalzamento del TSH. Il rimanente 10% è causato da disormonogenesi o da deficienza ipotalamica o ipofisaria. In quest'ultimo caso si osservano valori bassi di concentrazione sia per il T_4 che per il TSH.

Il quadro clinico dell'ipotiroidismo congenito si instaura gradualmente e si rende manifesto a partire dalla 6^a settimana di vita extrauterina, quando l'apporto di ormoni iodati diventa insufficiente. I primi sintomi sono aspecifici e facilmente sottovalutabili. Tra questi va ricordata la persistenza dell'ittero neonatale, la stipsi, la frequenza delle crisi respiratorie con cianosi, l'aspetto calmo e sonnolento del neonato, ecc.

A partire dal primo anno di vita la malattia si delinea nella sua completezza se non è stata diagnosticata e opportunamente trattata. La statura è inferiore alla norma, la metà superiore del tronco prevale rispetto a quella inferiore, il soggetto conserva proporzioni infantili, la fonazione e la dentizione sono ritardate. La pubertà compare con ritardo o può addirittura mancare se non interviene una adeguata terapia sostitutiva. Le alterazioni scheletriche e quelle nervose compromettono la deambulazione che è incerta, ritardata e talora impossibile.

A causa della sintomatologia estremamente aspecifica e sporadica, l'ipotiroidismo congenito è difficile da diagnosticare nel neonato e passa spesso inosservato in questo periodo o anche nell'infanzia.

Sino ad epoca relativamente recente la diagnosi precoce dell'ipotiroidismo neonatale era affidata alla sensibilità clinica del pediatra, la cui specifica competenza poteva non essere sufficiente per definire lo stato funzionale tiroideo. Per l'inadeguatezza dei metodi di dosaggio degli ormoni tiroidei e di valutazione dei meccanismi di controllo ipofisario dell'attività tiroidea, lo stato ipotiroidico poteva essere sospettato solo dopo 6-8 settimane dalla

nascita o addirittura 3-6 mesi, quando il quadro clinico e metabolico della malattia era già troppo avanzato.

In uno studio retrospettivo effettuato in Olanda [42] su un campione di 46 bambini con ipotiroidismo congenito è stato appurato che la diagnosi clinica e il trattamento sono stati dilazionati al 4° mese nel 71% dei casi e fino al 6° nel 54%. Il quoziente intellettivo medio dei 46 bambini era 71, il 72% di essi avevano valori inferiori a 90 e il 20% valori inferiori a 50. Ne risulta che una diagnosi clinica precoce è molto difficoltosa per la sporadicità della malattia e per l'assenza di una sintomatologia specifica. Tale malattia viene diagnosticata clinicamente prima dei due mesi di vita solamente in meno del 10% dei bambini.

Durante l'ultimo decennio numerose linee di ricerca hanno fornito risultati che hanno cambiato l'approccio alla diagnosi e al trattamento dei bambini ipotiroidici.

Recenti evidenze [43] che indicano molto limitato il trasferimento placentare (10 %) degli ormoni tiroidei, l'osservazione che l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide è indipendente da quello materno e funzionante nel feto nell'ultimo trimestre di gravidanza e la disponibilità di tecniche radioimmunologiche notevolmente specifiche e sensibili per il dosaggio degli ormoni tiroidei e del TSH, ha reso possibile la diagnosi precoce dell'ipotiroidismo congenito mediante l'utilizzazione di test di laboratorio.

Screening sistematico per l'ipotiroidismo congenito nel neonato

L'esperienza accumulata nella realizzazione di *screenings* neonatali per la fenilchetonuria e per altre alterazioni metaboliche ha incoraggiato lo sviluppo di numerosi programmi di ricerca riguardanti lo *screening* per l'ipotiroidismo congenito.

I primi programmi pilota per l'ipotiroidismo congenito furono avviati nel 1973 nella provincia di Quebec (Canada) e a Pittsburgh (USA).

A Quebec lo *screening* entrò a far parte di un programma di genetica medica già operante per l'accertamento di fenilchetonuria, tirosinemia e galattosemia. Il Laboratorio Centrale a cui pervenivano i campioni di sangue adsorbiti su carta di tutti i nati della provincia (80.000 nascite/anno), era in stretto collegamento con gli ospedali e con i medici responsabili, allo scopo di realizzare soprattutto un efficiente *follow up*.

Lo *screening* fu iniziato utilizzando il dosaggio RIA della T_4 su campioni di sangue prelevato durante le prime giornate di vita e fatto adsorbire su speciale carta da filtro, (Schleicher and Schuell n. 2992), la stessa usata per l'accertamento della fenilchetonuria. Più recentemente nel programma è stato incluso anche il dosaggio del TSH neonatale, realizzato, con un metodo RIA molto sensibile e specifico, sui campioni che presentano valori bassi di T_4 .

A Pittsburgh lo *screening* fu iniziato con il dosaggio del TSH sul siero del cordone ombelicale, utilizzando un comune metodo radioimmunologico per la determinazione del TSH su siero.

Dopo queste due prime iniziative, un terzo programma pilota fu iniziato in Canada, a Toronto, e altri programmi regionali furono stabiliti nell'Oregon (Alaska, Idaho, Montana, Oregon e Nevada) e nel Massachussets (Connecticut, Maine, Massachussets, New Hampshire e Rhode Island).

Il programma di Toronto iniziò con una valutazione comparativa dei metodi usati per effettuare lo *screening* sul sangue del cordone ombelicale e sul sangue prelevato in 3^a-5^a giornata e adsorbito su carta. Tale programma ora prevede il dosaggio RIA del T₄ sul siero del cordone di tutti i neonati e la determinazione del TSH e del T₃ per tutti quei bambini che presentano valori bassi di T₄.

I primi risultati furono presentati nel 1974 dal programma realizzato a Pittsburgh. Klein e Coll. [44] hanno riportato i dati relativi al dosaggio del TSH su siero di cordone ombelicale in circa 3.500 bambini nati al Mager Women's Hospital in un intervallo di sei mesi.

Questi AA. hanno individuato tra i primi 3.500 neonati sottoposti a *screening*, un bambino ipotiroidico con valore di TSH superiore a 100 µU/ml.

Dopo breve tempo furono disponibili i primi risultati del programma pilota realizzato a Quebec. Dussault e Coll. [45], sviluppando lo *screening* mediante il dosaggio RIA del T₄ su sangue adsorbito su carta, seguito, nei casi in cui si avevano valori bassi di T₄ dalla determinazione su siero del TSH, degli ormoni tiroidei e della TBG, trovarono nei primi 47.000 bambini sottoposti a *screening* 10 casi che presentavano valori di T₄ al di sotto della normalità. Di questi, 3 mostravano un *deficit* di TBG e 7 ebbero confermata la diagnosi di ipotiroidismo congenito.

I dati preliminari relativi allo *screening* realizzato a Toronto, oltre a confermare i risultati di Pittsburgh sulla validità del dosaggio del TSH sul siero di cordone ombelicale, misero in evidenza che la determinazione della T₄ comportava una percentuale molto più elevata di falsi positivi e quindi, di richiami. Inoltre, essendosi reso disponibile un nuovo antisiero anti-TSH altamente specifico, si cercò di adattare il metodo RIA di dosaggio del TSH su siero alla determinazione dell'ormone su sangue adsorbito su carta.

Il programma condotto in Oregon per primo riportò i dati relativi alla applicazione di questa nuova tecnica come test di conferma dei risultati ottenuti mediante il dosaggio su carta del T₄ [46].

Alla fine del 1976, dopo circa due anni di ricerca, Dussault e Coll. [47] riportarono i risultati relativi a 175.000 neonati sottoposti a *screening* nella provincia di Quebec. Furono individuati 28 casi di ipotiroidismo, 24 con disgenesia tiroidea, 2 con disormonogenesi e 2 con ipotiroidismo di origine ipotalamica o ipofisaria.

La Tab. 1 riporta il numero di neonati (708.000) sottoposti allo *screening* per ipotiroidismo congenito fino al settembre 1977 e i bambini risultati anormali nei cinque programmi pilota effettuati nel Nord America [48]. L'incidenza di ipotiroidismo congenito primario e secondario osservata è pari a 1 per 4.589 nati. Nella Tab. 2 sono riportati i vari tipi di alterazioni osservate nei bambini con ipotiroidismo primario. La maggior parte, 91 %, pre-

TABELLA 1

Numero di bambini sottoposti a screening e numero di casi di ipotiroidismo primario e secondario

PROGRAMMI DI SCREENING	N. di bambini sottoposti a screening	Casi di ipotiroidismo primario	Casi di ipotiroidismo secondario
Quebec	278.000	65	6
Oregon	133.000	29	0
Massachussets	214.000	45	—
Pittsburgh	35.000	6	—
Toronto	48.000	11	1
TOTALE	708.000	156	7

TABELLA 2

Tipi di ipotiroidismo primario identificati nei programmi di screening neonatale

PROGRAMMI DI SCREENING	Casi di agenesia o disgenesia	Casi di tiroide normale o ipertrofica
Quebec	63	2
Oregon	11	2
Massachussets	8	3
Pittsburgh	5	1
Toronto	8	3
TOTALE	95 (91 %)	11 (9 %)

sentavano aplasia o ipoplasia della tiroide, solamente il 9% potevano essere classificati come casi di gozzo ipotiroidico. L'incidenza di tale anomalia è di circa 1 per 68.000 nati.

L'incidenza di ipotiroidismo secondario, emersa dai programmi pilota di Quebec, Oregon e Toronto, è di 1 per 65.670 nati. Un totale di 9 neonati, individuati nel corso dello *screening* sviluppato in Oregon, Pittsburgh e Toronto, presentava valori normali di T_4 e livelli elevati di TSH nel siero. Il difetto metabolico di questi neonati non è stato ancora ben chiarito, in alcuni si potrebbe diagnosticare una ipoplasia della tiroide con residui funzionanti di tessuto, in altri difetti compensati dell'ormonogenesi tiroidea.

Questi bambini sono stati individuati in quei programmi in cui lo *screening* viene basato sulla determinazione del TSH (Pittsburgh), o in cui è previsto sistematicamente un test per il TSH su un prelievo effettuato a 6 settimane (Oregon), o in cui il test del TSH viene eseguito sui campioni la cui determinazione del T_3 si trova al di sotto di un valore minimo prestabilito (Toronto).

L'incidenza di bambini affetti da *deficit* di TBG, determinata durante i programmi di *screening*, varia da 1:5.000 a Toronto a 1:11.000 a Quebec, con una media di 1:9.420, circa la metà dell'incidenza di ipotiroidismo congenito.

Il trattamento terapeutico dei bambini affetti da ipotiroidismo congenito, individuati nei vari programmi pilota, generalmente è stato iniziato prima del compimento del secondo mese di età.

Fino ad ora sono disponibili solo risultati preliminari, riguardanti il reale beneficio del trattamento precoce dell'ipotiroidismo congenito. Nel programma condotto a Quebec, sono stati valutati i Q.I. di 14 bambini di un anno in cui il trattamento era stato iniziato mediamente a 6 settimane di vita. Tali bambini mostrano un normale sviluppo psicologico e neuromuscolare secondo il test di Griffith: l'acrescimento e la maturazione ossea appaiono normali.

Studi di questo tipo, che mirano ad una valutazione dell'effettivo beneficio della diagnosi e del trattamento precoce dell'ipotiroidismo congenito, sono attualmente in corso di svolgimento.

In base ai risultati riportati nei vari programmi pilota di *screening* condotti in Canada e nel Nord America, l'American Thyroid Association e il Committee on Genetics of the American Academy of Pediatrics, costituitosi quest'ultimo nel 1976, hanno concluso che lo *screening* neonatale ha portato un reale contributo alla diagnosi precoce di ipotiroidismo congenito. Tali associazioni hanno, inoltre, pubblicato una serie di raccomandazioni relative all'attuazione dello *screening* per l'ipotiroidismo congenito, raccomandazioni diffuse successivamente anche dal Gruppo di Endocrinologia Pediatrica della S.I.P. [49].

Il sangue deve essere prelevato per puntura del tallone e fatto adsorbire su carta in 3^a-5^a giornata di vita. Deve essere, quindi, inviato ad un laboratorio centralizzato e specializzato per i test di funzionalità tiroidea. Viene consigliato il metodo di *screening* che prevede il dosaggio del T₄ su sangue adsorbito su carta seguito eventualmente, per quei soggetti che presentino valori bassi del T₄ dal dosaggio del TSH, sempre su carta. La determinazione RIA del TSH aumenta e migliora, infatti, la specificità dello *screening* basato sul dosaggio del T₄.

Deve essere stabilito un protocollo per il richiamo dei pazienti sospetti di ipotiroidismo, per i quali è previsto un secondo prelievo, possibilmente entro la 4^a settimana di vita, su cui effettuare i test di funzionalità tiroidea per confermare l'ipotesi di ipotiroidismo.

La terapia deve iniziare entro il primo mese di vita.

Programmi di *screening* per l'ipotiroidismo congenito sono stati attuati e sono in via di sviluppo anche in numerosi stati Europei e in Australia, nell'intento di verificare le incidenze relative delle varie forme di ipotiroidismo congenito, di fare una valutazione a livello epidemiologico e di contribuire a definire la strategia operativa più idonea.

In Europa, alla fine del 1978, erano stati sottoposti a *screening* circa 500.000 neonati ed è risultata un'incidenza di ipotiroidismo congenito pari a 1/3.700 [50].

In particolare, la Svizzera, dal 1^o gennaio 1977, sta conducendo lo *screening* per l'ipotiroidismo su tutta la popolazione, determinando il TSH neonatale in 5^a giornata di vita. La frequenza osservata è pari a 1/3.000 [51]. In Australia, e precisamente nella città di Victoria che prevede 60.000 nascite l'anno, lo *screening* sistematico è iniziato nel maggio del 1977. Alla fine dello stesso anno, su un totale di 40.000 neonati sottoposti a *screening*, veniva rilevata una frequenza di ipotiroidismo di circa 1/4.000.

Nel 1978, presso il Center for Disease Control di Atlanta, è stato condotto un primo programma pilota per lo sviluppo del controllo di qualità da applicare ai metodi di *screening* per l'ipotiroidismo neonatale [52]. I risultati di tale studio, cui hanno partecipato 17 Stati Americani, saranno disponibili entro breve tempo.

Le ricerche che sono state condotte in varie parti del mondo, sia a livello pilota che sistematico, nell'intento di realizzare la diagnosi precoce di ipotiroidismo congenito, oltre ad aver contribuito a definire le frequenze relative delle varie forme di questa malattia, hanno permesso di approfondire le conoscenze nell'ambito della fisiopatologia tiroidea.

Questa breve rassegna ha voluto sottolineare la gravità dello stato ipotiroideo nel neonato, in relazione ai danni che si possono produrre irreversibilmente a livello del sistema nervoso centrale, provocando un grave ritardo mentale. Ha voluto, inoltre, mettere in evidenza quale sia stato l'impegno dei

numerosi gruppi di studio, nel Nord America e in Europa, nella realizzazione di programmi pilota che, attraverso la ricerca di nuove metodiche sempre più specifiche e sensibili e delle strategie operative più idonee, hanno reso possibile la diagnosi precoce della malattia.

Ricevuto il 4 marzo 1979

Accettato il 9 marzo 1979

BIBLIOGRAFIA

1. STEIN, Z. A. 1975. Strategies for the prevention of mental retardation. *Bull. N. Y. Acad. Med.* **51**: 130-142.
2. FISHER, D. A. 1975. Neonatal detection of hypothyroidism. *J. Pediatr.* **86**: 822-824.
3. FOLEY, T. P., KLEIN, A. H., AGUSTIN, A. V. & HOPWOOD, N. Y. 1975. Screening for congenital hypothyroidism by the determination of thyrotropin levels. In: *Perinatal Thyroid Physiology and Disease*. D. A. Fisher & G. N. Burrow (Eds.), Raven Press-Publ. N. Y. 1975, pp. 255-261.
4. LARSEN, P. R. & BROSKIN, K. 1975. Thyroxine (T₄) immunoassay using filter paper blood samples for screening of neonate for hypothyroidism. *Pediatr. Res.* **9**: 604-609.
5. DUSSAULT, J. H., LETARTE, J., GUYDA, H. & LABERGE, C. 1976. Thyroid function in neonatal hypothyroidism. *J. Pediatr.* **89**: 541-544.
6. WALFISH, P. G. 1976. Evaluation of three thyroid-function screening tests for detecting neonatal hypothyroidism. *Lancet*, **1**: 1208-1211.
7. REICHLIN, S. 1973. Hypothalamic-pituitary function. In: *Endocrinology. Proc. 4th Inter. Congress Endocrinology*. R. P. Scow (Ed.), Excerpta Med., Amsterdam, ICS 273 1973, p. 1.
8. VALE, V., GRANT, G. & GUILLEMIN, R. 1975. Chemistry of the hypothalamic releasing factors. Studies on structure-function relationship in TRF and LRF. In: *Frontiers in Neuroendocrinology*. W. F. Ganong & L. Martini (Eds.), Oxford University Press, London, p. 1.
9. MOTTA, M., FRASCHINI, F. & MARTINI, L. 1969. «Shorty» feedback mechanism in the control of anterior pituitary function. In: *Frontiers in Neuroendocrinology*. W. F. Ganong & L. Martini (Eds.), Oxford University Press, New York, p. 211.
10. LIAO, T. & PIERCE, J. G. 1971. The primary structure of bovine thyrotropin. II. The aminoacid sequences of the reduced-S-carboxymethyl- α and β chains. *J. Biol. Chem.* **246**: 850-865.
11. BENVENISTE, R., BELL, J., KOEPEL, J. & RABINOWITZ, D. 1973. Appearance of α chain of glycoprotein hormone in serum after i. v. injection of TRH. *5th Annual Meeting, European Thyroid Association*. Jerusalem abstr., 6.
12. LEBLOND, C. P. 1941. Iodine fixation in the thyroid as influenced by the hypophysis and other factors. *J. Amer. Physiol.* **134**: 549-561.
13. WENZEL, K. W., MEINHOLD, H. & SCHLEUSENER, H. 1975. Different effects of oral doses of triiodothyronine or thyroxine on the inhibition of thyrotropin releasing hormone (TRH) mediated thyrotropin (TSH) response in man. *Acta Endocrinol. Copenhagen* **80**: 42-48.

14. RANDALL, R. V. & ALBERT, A. 1951. The effect of hypophysectomy on the uptake of radioactive iodine by the thyroid of the rat. *Endocrinology*, **48**: 327-333.
15. SUTHERLAND, E. W., OYE, I. & BUTCHER, R. W. 1965. The action of epinephrine and the adenylyl-cyclase system in hormone action. *Rec. Proc. Horm. Res.* **21**: 623-646.
16. AHN, C. S., ATHANS, J. C. & ROSENBERG, I. N. 1969. Stimulation of thyroid hormone secretion by dibutyryl cyclic-AMP. *Endocrinology*, **85**: 224-230.
17. LISSITZKY, S., FAYET, G., GIRAUD, A., VERRIER, B. & TORRESANI, J. 1971. Thyrotropin induced aggregation and reorganization into follicles of isolated porcine-thyroid cells. *Europ. J. Biochem.* **24**: 88-99.
18. ANDREOLI, M. & ROBBINS, J. 1962. Serum proteins and thyroxine protein interaction in early human fetuses. *J. Clin. Endocrinol.* **41**: 2070-2075.
19. OSORIO, C., MYANT, N. B. 1962. The binding of thyroxine by human fetal serum. *Clin. Sci.* **23**: 277-282.
20. ABBASSI, V., MERCHANT, K. & ABRAMSON, D. 1977. Postnatal triiodothyronine concentration in healthy preterm infants and in infants with respiratory syndrome. *Ped. Res.* **11**: 802-808.
21. ABUID, J., STINSON, D. A. & LARSEN, P. R. 1973. Serum triiodothyronine and thyroxine in the neonate and the acute increases in these hormones following delivery. *J. Clin. Invest.* **52**: 1195-1199.
22. FISHER, D. A. & ODELL, W. D. 1969. Acute release of thyrotropin in the newborn. *J. Clin. Invest.* **48**: 1670.
23. CHOPRA, I. J., SACK, J., FISHER, A. A. 1975. Circulating 3, 3', 5' triiodothyronine (Reverse T₃) in the human newborn. *J. Clin. Invest.* **55**: 1137-1141.
24. JACOBSON, B. B., ANDERSEN, H., DIGE-PEITERSSEN, H. & HUMMER, L. 1977. Pituitary-thyroid responsiveness to thyrotropine-releasing hormone in preterm and small-for gestational age newborns. *Acta Paed. Scand.* **66**: 541-548.
25. ANDREOLI, M. 1974. Stati ipotiroidei. In: *La Tiroide «Il pensiero scientifico»*. Ed., pp. 262-375.
26. GRAVE, G. D. 1977. *Thyroid Hormones in Brain Development*, Raven Press, N. Y.
27. SHELANSKY, M. L., GASKIN, F. & CANTOR, R. C. 1973. Microtubule assembly in the absence of added nucleotides. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **70**: 765-768.
28. GASKIN, F., CANTOR, R. C. & SHELANSKY, M. L. 1974. Turbidimetric studies of the *in vitro* assembly and disassembly of porcine neurotubules. *J. Mol. Biol.* **89**: 737-758.
29. FELLOUS, A., FRANCON, J., LENNON, A. M., & NUNEZ, J. 1977. Microtubule assembly *in vitro*. *Eur. J. Biochem.* **78**: 167-174.
30. FRANCON, J., FELLOUS, A., LENNON, A. M. & NUNEZ, J. 1977. Is thyroxine a regulatory signal for neurotubule assembly during brain development? *Nature*, **266**: 188-190.
31. NUNEZ, J. 1978. Ormoni tiroidei e sviluppo delle connessioni cerebrali. In: *Atti del XVII Congresso Nazionale della Società di Endocrinologia*, pp. 11-20.
32. FAYRS, J. T. 1960. Influence of the thyroid on the central nervous system. *Brit. Med. Bull.* **16**: 122-127.
33. RAITI, S. & NEWNS, G. H. 1971. Cretinism: early diagnosis and its relation to mental prognosis. *Arch. Dis. Child.* **46**: 692-701.
34. KLEIN, A. H., MELTZER, S. & KENNY, F. M. 1972. Improved prognosis in congenital hypothyroidism treated before age three months. *J. Pediatr.* **81**: 912-915.

35. ROCHICCIOLI, P., DUTAU, G., BAYARD, F. & AUGIER, D. 1975. Neonatal detection of hypothyroidism by radioimmunoassay of the thyroxine₂ in the eluate of dried blood (Abstract) *Pediatr. Res.* **9**: 685.
36. BLIZZARD, R. M., CHADLER, R. W., LAUDING, B. H., PETIT, M. D. & WEST, C. D. 1960. Maternal autoimmunization to thyroid as a probable cause of athyreotic cretinism. *New Engl. J. Med.* **263**: 327-333.
37. PARKER, R. H. & BEIERWALTES, W. H. 1961. Thyroid antibodies during pregnancy and in the newborn. *J. Clin. Endocrinol.* **21**: 792-798.
38. STANBURY, J. B. 1966. Familial goiter. In: *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*. McGraw-Hill, N. Y., pp. 215-257.
39. WOLFF, J., THOMPSON, R. H. & ROBBINS, J. 1964. Congenital goitrous cretinism due to the absence of iodide-concentrating ability. *J. Clin. Endocr.* **24**: 699-707.
40. VOLENTA, L., BODE, H. H., VICKERY, A. L. & MOLOOF, F. 1971. Lack of thyroid peroxidase activity; a cause of congenital goitrous hypothyroidism. *J. Clin. Invest.* **50**: 94-97.
41. ANDREOLI, M. 1974. Stati ipotiroidici. In: *La Tiroide. «Il Pensiero Scientifico» Ed.*, pp. 262-375.
42. VAN GENMUND, J. J. & DE ANGULO, M. S. J. 1977. The effects of early hypothyroidism in I.Q., school performance, and electroencephalogram pattern. In: *Normal and Abnormal Development of Brain and Behaviour*. Stoeltinga, C. B. A. & Van Der Werff Ten Bosch, J. J. (Eds.), pp. 299-313.
43. FISHER, D. A., LEHMAN, H. & LACKEY, C. 1964. Placental transport of thyroxine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **24**: 393-400.
44. KLEIN, A. H., AGUSTIN, A. V., & FOLEY, T. P. 1974. Successful laboratory screening for congenital hypothyroidism. *Lancet* **ii**: 77-79.
45. DUSSAULT, J. H. & COULOMBE, P. 1975. Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism. *J. Pediat.* **86**: 670-674.
46. BUIST, N. R. & MURPHEY, W. F. 1975. Neonatal screening for hypothyroidism. *Lancet* **ii**: 872-873.
47. DUSSAULT, J. H. & LETARTE, J. 1976. Thyroid function in neonatal hypothyroidism. *J. Pediat.* **89**: 541-544.
48. FISHER, D. A. 1978. Neonatal thyroid screening. *Pediatric Clinics of North America*, **25**: 423-430.
49. Gruppo di Endocrinologia pediatrica della S.I.P. 1977. Proposte operative nel settore dell'ipotiroidismo congenito. *Riv. Ital. Ped.* **3**: 411-415.
50. BECKERS, C. 1978. Comunicazione personale.
51. ILLIG, R. & TORRESANI, T. 1977. Early detection of neonatal hypothyroidism by serial TSH determination in dried blood. *Helv. Paediat. Acta*, **32**: 289-297.
52. HANNAN, W. H. 1978. Comunicazione personale.