

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

LUCIANA ANTUNES DE ALMEIDA SECCHI

**HIPOTIREOIDISMO NEONATAL E
ANORMALIDADES CONGÊNITAS EXTRATIREOIDIANAS
ASSOCIADOS A
TRANSLOCAÇÃO t(8;16)**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Rocha Neves

Brasília
2012

LUCIANA ANTUNES DE ALMEIDA SECCHI

**HIPOTIREOIDISMO NEONATAL E
ANORMALIDADES CONGÊNITAS EXTRATIREOIDIANAS
ASSOCIADOS A
TRANSLOCAÇÃO t(8;16)**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do título de
Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação
em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovada em 24 de agosto de 2012.

1 BANCA EXAMINADORA

Dr. Francisco de Assis Rocha Neves (presidente)

Universidade de Brasília – UnB

Dr. Hans Graf

Universidade Federal do Paraná – UFPR

Dra. Íris Ferrari

Universidade de Brasília – UnB

Dr. Gustavo Barcelos Barra

Laboratório Sabin – Brasília (DF)

Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo

Universidade de São Paulo - USP

Dra. Angélica Amorim Amato (suplente)

Universidade de Brasília - UnB

*Ao Fábio, fonte de amor, incentivo e suporte sempre.
Ao Pedro e à Helena, motivação e razão para servir de exemplo.*

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Francisco Neves, meu orientador e grande professor, que, com delicadeza, paciência e sabedoria, soube entender meus objetivos e me conduziu, cobrou e corrigiu meus rumos nesse processo de amadurecimento técnico, científico e de vida. Quase tudo neste trabalho devo a ele, grata surpresa em minha vida.

À Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo, pelo grande, paciente e generoso auxílio com seu conhecimento de genética, suas valiosas sugestões e críticas, pelo auxílio na redação do artigo e no encaminhamento do material do paciente para realização do estudo por *CGH-array*.

À Professora Dra. Íris Ferrari, pelo incentivo entusiasmado, pelo auxílio e carinhosa acolhida, e pelo seu trabalho no processamento das amostras e na realização do cariótipo dos indivíduos da família estudada.

À Dra. Mara Santos Córdoba, pelo auxílio na realização e interpretação das imagens do cariótipo dos indivíduos estudados, e ao Dr. José Carlos Córdoba, pela obtenção das imagens.

Ao Dr. Helton Estrela Ramos, pelas críticas e contribuições ao estudo do caso e análises genéticas desde antes do ingresso no programa de pós-graduação.

À Dra. Adriana Lofrano Porto e à Dra. Angélica Amorim Amato, pela generosa disponibilidade para auxílio e discussão e particularmente à Dra. Angélica, pelo auxílio na extração do DNA do sangue do paciente estudado.

À Professora Carla Rosenberg, do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, pela análise do *CGH-array*.

Ao Dr. Pedro Monteiro de Almeida, meu pai, que não pode estar presente à conclusão deste trabalho, pelo suporte e incentivo sempre e pelo auxílio técnico e logístico na obtenção dos dados e amostras de sangue dos membros da família estudada residentes no estado do Paraná.

À Dra. Vânia Lúcia de Oliveira Castro, pela generosidade em ceder seu laboratório, pessoal e material para coleta e acondicionamento das amostras de sangue, e ao amigo Luiz Carlos Morais Vilhagra pelo auxílio no envio a Brasília das amostras de sangue dos membros da família estudada residentes no estado do Mato Grosso do Sul.

Às bioquímicas Silvana Mendes Bettoni e Maria Betânia Guimarães Souto, pela assessoria técnica na obtenção e tratamento das amostras de sangue.

À Maria Carolina Cambraia Guimaro Diniz, pela surpreendente e importantíssima amizade, generosidade, zelo e carinho com que sempre prestou apoio logístico em importantes e decisivos momentos.

À professora Anna Maria Barros, pela competência e paciência em revisar e corrigir os artigos e documentos na língua inglesa produzidos durante a realização deste estudo.

À minha mãe, Joaquina Antunes de Almeida, pelo apoio à minha família para que pudesse desempenhar as funções no programa de pós-graduação.

Aos membros da família do probando, que generosamente colocaram à minha disposição sua história, dados médicos, sua casa, seu tempo e amostras de sangue para o desenvolvimento deste estudo, e em especial ao probando, criança que foi fonte de inspiração desde o primeiro contato.

RESUMO

Defeitos genéticos resultando em deficiência hormonal tireoidiana podem ser encontrados em cerca de 10% dos pacientes com hipotireoidismo congênito permanente, porém a identificação de anormalidades genéticas associadas à forma transitória da doença é extremamente rara. Este estudo relata o caso de um menino com hipotireoidismo neonatal transitório não diagnosticado ao teste de triagem neonatal associado a malformações extratireoidianas (hipertelorismo ocular, desvio do septo nasal, atresia de coana, hérnia umbilical, hipospádia, ânus imperfurado) e retardo mental, portador de translocação não-balanceada t(8;16). Seu tio materno tinha fenótipo similar. Análise cromossômica definiu o cariótipo do paciente como 46,XY,der(8)t(8;16)(q24.3;q22)mat,16qh+ (cariótipo masculino com a presença de cromossomo derivativo 8 resultante de translocação t(8;16) de origem materna e polimorfismo no braço longo do cromossomo 16). Análise citogenética por CGH-array com o DNA do paciente revelou deleção terminal de ~80 kb no cromossomo 8 (8q24.3qter) e duplicação de ~21 Mb no cromossomo 16 (16q22qter). O gene *ZNF252*, cuja função ainda não é conhecida, encontra-se mapeado na região da deleção no cromossomo 8 do paciente e é altamente expresso na tireoide, o sugere que possa desempenhar função importante nesse órgão. No probando a disfunção tireoidiana parece ser relacionada à translocação não balanceada t(8;16), já que a translocação balanceada observada em seus parentes não está associada a disfunção hormonal tireoidiana. Este é o primeiro relato de associação de uma translocação cromossômica com a forma transitória do hipotireoidismo congênito. Esta descrição descortina novas hipóteses para a fisiopatologia do hipotireoidismo congênito transitório e também pode contribuir para a definição do fenótipo da translocação não-balanceada t(8;16)(q24.3;q22), nunca descrito anteriormente.

Palavras-chave: hipotireoidismo congênito transitório; translocação não balanceada t(8;16); malformações extratireoidianas; fenótipo t(8;16).

ABSTRACT

Genetic defects resulting in deficiency of thyroid hormone synthesis can be found in about 10% of the patients with permanent congenital hypothyroidism, but the identification of genetic abnormalities in association with the transient form of the disease is extremely rare. We report the case of a boy with transient neonatal hypothyroidism undiagnosed through neonatal screening associated with extrathyroid malformations (ocular hypertelorism, deviated nasal septum, choanal atresia, umbilical hernia, hypospadias, imperforate anus) and mental retardation who carries an unbalanced translocation t(8;16) and whose maternal uncle had a similar phenotype. Chromosomal analysis defined the patient's karyotype as 46,XY,der(8)t(8;16)(q24.3;q22)mat,16qh+ (male karyotype with derivative chromosome 8 resulting from translocation t(8;16) of maternal origin and polymorphism on the long arm of chromosome 16). Array-CGH with patient's DNA revealed a ~80 kb terminal deletion on chromosome 8 (8q24.3qter) and a ~21 Mb duplication on chromosome 16 (16q22qter). *ZNF252* gene, mapped to the deleted region on patient's chromosome 8, although still of unknown function, is highly expressed in the thyroid, what may suggest a prominent role of the gene in that tissue. Patient's thyroid dysfunction seems to be related to his unbalanced translocation t(8;16), since a balanced translocation observed in his relatives is not associated with thyroid hormone dysfunction. This is the first report on the association of a chromosomal translocation with the transient form of congenital hypothyroidism. This description opens new hypothesis for the physiopathology of transient congenital hypothyroidism, and can also contribute to the definition of the phenotype of the unbalanced translocation t(8;16)(q24.3;q22) that has never been described before.

Key words: transient congenital hypothyroidism; unbalanced translocation t(8;16); extrathyroid malformations; t(8;16) phenotype.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da DUOX2 e DUOXA2 no sistema tireoidiano de geração de H₂O₂.

Figura 2 – Heredograma de parte da família do probando.

Figura 3 – Probando nos primeiros dias de vida.

Figura 4 – Probando aos 6 anos de idade.

Figura 5 – Hérnia umbilical e hipospádia parcialmente corrigida.

Figura 6 – Ultrassonografia de tireoide realizada quando o probando tinha 4 anos de idade.

Figura 7 – Cintilografia da tireoide do probando.

Figura 8 – Cariótipo do probando.

Figura 9 – Cromossomos 8 e 16 (translocados) do cariótipo do probando.

Figura 10 – Cariótipo da mãe do probando.

Figura 11 – Representação esquemática das regiões cromossômicas envolvidas na translocação t(8;16) (q24.3qter::q22qter) do probando.

Figura 12 – Representação esquemática da translocação t(8;16) da mãe do probando (balanceada) e do probando (não balanceada).

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Fatores de risco para hipotireoidismo congênito

Quadro 1 – Fatores etiológicos não genéticos para hipotireoidismo congênito transitório

Tabela 2 – Defeitos genéticos associados a desenvolvimento tireoidiano e/ou síntese hormonal tireoidiana anormal

Tabela 3 – Dose de reposição de levotiroxina e concentração de TSH e hormônios tireoidianos do probando

LISTA DE SIGLAS

CGH-array	hibridação comparativa do genoma em microarranjos
CNV	variações no número de cópias
DEHAL1	iodotirosina-dehalogenase 1
DIT	diiidotironina
DNA	ácido desoxirribonucleico
DUOX	tireo-oxidase
DUOXA	fator de maturação da tireo-oxidase
H₂O₂	peróxido de hidrogênio
MIT	moniodotironina
NIS	co-transportador sódio-iodeto
T3	triiodotironina
T4	tiroxina
TBG	globulina ligadora dos hormônios tireoidianos
TG	tireoglobulina
TPO	tireoperoxidase
TRAb	anticorpo anti-receptor do TSH
TRH	hormônio liberador de tireotrofina
TSH	hormônio tireoestimulante
TSHR	receptor do TSH

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO OU NEONATAL	13
2.1.1 Definições e epidemiologia	13
2.1.2 Etiologia	13
2.1.3 Diagnóstico	14
2.1.4 Tratamento	15
2.2 HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO TRANSITÓRIO	15
2.2.1 Epidemiologia	15
2.2.2 Etiologia	17
2.3 DESENVOLVIMENTO TIREOIDIANO	19
2.4 CAUSAS GENÉTICAS DE HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO	20
2.4.1 Hipotireoidismo congênito transitório de origem genética	22
2.4.2 Hipotireoidismo congênito associado a alterações nos cromossomos 8 e 16	26
2.5 HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO E MALFORMAÇÕES NÃO TIREOIDIANAS	27
2.6 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO	28
2.6.1 Causas de falha diagnóstica na triagem neonatal	28
2.6.2 Triagem neonatal para hipotireoidismo congênito no Brasil	30
3 OBJETIVOS	31
4 PACIENTES E MÉTODOS	32
4.1 SUJEITOS DO ESTUDO	32
4.2 ANÁLISE DO CARIÓTIPO	33
4.3 ANÁLISE CITOGENÉTICA	34
5 RESULTADOS	36
5.1 PROBANDO	36
5.2 ANÁLISE GENÉTICA	41
5.3 TIO MATERNO DO PROBANDO	44
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÕES	53
8 REFERÊNCIAS	54
ANEXO I – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	68
ANEXO II – HEREDOGRAMA COMPLETO	69
ANEXO III – ARTIGO SUBMETIDO A PUBLICAÇÃO	70

1 INTRODUÇÃO

Função tireoidiana normal é essencial para o desenvolvimento, crescimento e homeostase metabólica. Insuficiência tireoidiana congênita (hipotireoidismo congênito ou neonatal) é a anormalidade endócrina congênita mais comum (1,2). É permanente na maioria dos pacientes e transitória na menor parte deles (2-4). Em grande parte dos casos o hipotireoidismo congênito está associado às disgenesias tireoidianas (defeitos do desenvolvimento tireoidiano) (1,5), que em geral são esporádicas, porém a ocorrência familiar em cerca de 2% dos casos sugere etiologia genética (6).

As causas genéticas de hipotireoidismo congênito são, portanto, raramente identificadas e vêm sendo estudadas em várias famílias com ou sem anormalidades extratireoidianas associadas (1,5,7). Já foram diagnosticados defeitos em genes envolvidos na morfogênese tireoidiana ou em genes implicados na síntese hormonal (1,8), em sua maioria em pacientes com hipotireoidismo congênito permanente. Identificação de anormalidades genéticas causando a forma transitória da doença é extremamente rara.

A ocorrência de hipotireoidismo na primeira infância, mesmo quando subclínico ou de curta duração (transitório), é marcador clinicamente relevante de anormalidades tireoidianas e hipotireoidismo tecidual, e pode estar associada a consequências físicas e neurológicas adversas (9). Há evidências de que o hipotireoidismo congênito é uma das causas mais comuns de retardo mental passível de prevenção (10), o que justifica a triagem neonatal para a doença, possibilitando o tratamento precoce e a prevenção das sequelas (11). Os métodos de triagem neonatal têm limitações, e mesmo na ausência de erro técnico ou humano uma parte dos testes de triagem em portadores de hipotireoidismo congênito pode resultar falsamente normal (10).

Descrição clínica dos portadores de hipotireoidismo neonatal e de seus familiares e análises genéticas e moleculares podem ser úteis e trazer importantes informações sobre a etiologia e fisiopatologia das doenças tireoidianas, especialmente em casos familiares e em pacientes esporádicos com anormalidades fenotípicas adicionais (7,12). A incidência de malformações congênitas extratireoidianas em portadores de hipotireoidismo neonatal é significativamente maior do que na população geral (10,12,13-16).

Este estudo relata o caso de menino portador de hipotireoidismo neonatal transitório não diagnosticado pelo teste de triagem neonatal, associado a malformações extratireoidianas, retardo mental e translocação não balanceada t(8;16), cujo tio materno apresentava fenótipo similar. Discute-se o peculiar quadro clínico e os resultados de investigação das alterações cromossômicas diagnosticadas, considerando que se pode estar descrevendo uma associação inédita.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO OU NEONATAL

2.1.1 Definições e epidemiologia

Insuficiência tireoidiana congênita (hipotireoidismo congênito ou neonatal), a insuficiência ou falta de hormônios tireoidianos ao nascimento (17), é a anormalidade endócrina congênita mais comum (7) e ocorre em incidência variável conforme a iodo-suficiência da região, incidindo em 1:3.000 a 1:4.000 nascidos vivos em áreas iodo-suficientes.

O hipotireoidismo congênito pode ser primário (por alteração da glândula tireoide, incapaz de produzir hormônios tireoidianos em quantidade adequada para suprir a demanda fisiológica) ou, em raros casos, resultar de anormalidade do hipotálamo ou da hipófise – hipotireoidismo congênito central, em que não é possível produzir respectivamente o hormônio liberador de tireotrofina (TRH) ou o hormônio tireoestimulante (TSH) adequadamente e em quantidade suficiente para o controle normal do eixo hipotálamo/hipófise/tireoide e consequente produção hormonal tireoidiana suficiente e normal – podendo estar acompanhado de outras deficiências hormonais hipotálamo-hipofisárias.

Também se classifica o hipotireoidismo congênito quanto à sua duração em permanente (maioria dos casos, quando a insuficiência hormonal é persistente e requer tratamento por toda a vida) ou transitório (menos comum, ocorre normalização da função tireoidiana com o passar do tempo e não há necessidade de reposição de levotiroxina durante toda a vida para manter concentrações de hormônios tireoidianos normais) (17).

2.1.2 Etiologia

O hipotireoidismo congênito primário pode ser causado por defeitos na organogênese tireoidiana (disgenesias tireoidianas) ou em etapas da síntese hormonal (disormonogêneses) (5,7). A maior parte dos casos de hipotireoidismo congênito permanente (cerca de 85%) está associada às disgenesias (agenesia, hemiagenesia, ectopia ou hipoplasia) (5), as quais na grande maioria das vezes são

esporádicas, porém sua ocorrência familiar em cerca de 2% dos casos dá suporte à possibilidade de se tratar de condição hereditária, de etiologia genética (6,18). Mutações em genes candidatos envolvidos na morfogênese tireoidiana resultando em disgenesia têm sido estudadas em várias famílias com ou sem anormalidades extratireoidianas associadas, e já foram descritas mutações no gene do receptor do TSH (*TSHR*) ou dos fatores de transcrição *NKX2-1*, *NKX2-5*, *PAX8* e *FOXE1* (1,5,7,8,17). Cerca de 15% dos pacientes têm anormalidades em um dos vários genes envolvidos na síntese hormonal, como os genes que codificam a tireoglobulina, tireoperoxidase, co-transportador sódio-iodeto (proteína NIS), pendrina, tireo-oxidase 2 (*DUOX2*), iodotirosina-dehalogenase 1 (*DEHAL1*) (1,8), resultando em disormonogênese.

A hipótese de alterações genéticas estarem envolvidas na etiologia da doença é reforçada quando se constata que pacientes com hipotireoidismo congênito têm incidência de malformações extratireoidianas significativamente maior do que a população geral (11-13,15,16).

2.1.3 Diagnóstico

Bebês com mais de 48 horas de vida com concentração de TSH elevada, podendo ainda apresentar concentração sérica de tiroxina (T4) baixa ou na porção inferior do valor normal de referência, têm diagnóstico de hipotireoidismo congênito primário. Recém-nascidos com concentração de T4 livre baixa e de TSH baixa ou inadequadamente normal para a baixa concentração de hormônios tireoidianos podem ser portadores de hipotireoidismo congênito central.

Apenas cerca de 5% dos bebês portadores de hipotireoidismo congênito, notadamente os mais severamente afetados, apresentam sinais da doença reconhecíveis ao nascimento: hipotonia, choro rouco, fontanelas amplas e suturas cranianas largas, macroglossia, abdome distendido, hérnia umbilical e pele fria e moteada (19).

A investigação etiológica pode incluir cintilografia da tireoide (17,19,20), cuja informação pode ser complementada pela ultrassonografia cervical (17,19), e, conforme a indicação clínica, dosagem de tireoglobulina, iodúria, teste de descarga do iodo com perclorato e dosagem de autoanticorpos na criança e na mãe – anticorpos antitireoperoxidase, antitireoglobulina e anticorpo bloqueador do receptor

do TSH (10,17). Testes diagnósticos, no entanto, nunca podem retardar o início do tratamento dos recém-nascidos com hipotireoidismo neonatal, pois a demora em instituir reposição de tiroxina está fortemente associada a prejuízos no desenvolvimento neurológico e intelectual (21,22). A cintilografia, não podendo ser realizada imediatamente ao diagnóstico, deve ser realizada depois que a criança atingir 3 anos de idade, quando a reposição de tiroxina pode ser interrompida sem risco de dano ao sistema nervoso central (10).

2.1.4 Tratamento

Os pacientes com diagnóstico ou forte suspeita de hipotireoidismo neonatal devem receber levotiroxina por via oral (10 a 15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$) visando rapidamente atingir e manter a concentração sérica de TSH baixa dentro do intervalo normal de referência e a concentração de T4 e T4 livre na metade superior do intervalo normal de referência (10). Devido às evidências de que o hipotireoidismo congênito, ainda que transitório, está associado a prejuízos no desenvolvimento intelectual infantil (11), é de extrema importância que o tratamento seja iniciado imediatamente após o diagnóstico visando evitar ou minimizar as sequelas da deficiência de hormônios tireoidianos em época crítica do crescimento e desenvolvimento (10,22). Os pacientes nos quais não se diagnosticou agenesia tireoidiana e que mantiveram durante os primeiros anos de vida testes de função tireoidiana normais em vigência de reposição de tiroxina, mais tarde na infância (em geral depois de completos 3 anos de idade) terão o tratamento suspenso para se confirmar a natureza permanente ou transitória da condição (10,21).

1.2 HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO TRANSITÓRIO

2.2.1 Epidemiologia

Em cerca de 10% a 15% dos casos de hipotireoidismo congênito o distúrbio é transitório (2-4). Entretanto, há programas de triagem neonatal que documentam hipotireoidismo transitório em até 50% dos pacientes com hipotireoidismo congênito (23,24). A incidência de disfunção tireoidiana transitória varia conforme a iodo-suficiência e de acordo com os critérios diagnósticos adotados pelo programa de

triagem neonatal que cobre a região (25,26). A notificação ou não de sucesso na suspensão do tratamento também influencia na determinação das taxas de incidência da doença em sua apresentação transitória (27). A inclusão dos pacientes com hipotireoidismo neonatal transitório nas estatísticas relativas ao hipotireoidismo congênito vem contribuindo para o aumento na incidência que se tem documentado (25,27).

Levantamento recente nos Estados Unidos publicado por Kemper, Ouyang e Grosse surpreendentemente concluiu que quase 40% dos pacientes com hipotireoidismo congênito suspenderam o tratamento aos 3 anos de idade, alguns destes permanecendo eutireoidianos (24). Os autores presumem que tais pacientes eram portadores de hipotireoidismo transitório ou tinham resultado falso-positivo ao teste de triagem neonatal. Estes últimos podem ter recebido tratamento desnecessariamente.

A incidência do hipotireoidismo congênito permanente difere da incidência da forma transitória da doença em meninos e meninas, com relação de 2 meninas para cada menino diagnosticado como portador de hipotireoidismo permanente e 0,5:1 a 1:1 no hipotireoidismo congênito transitório (3,14,28) .

Fatores de risco para hipotireoidismo congênito podem estar presentes em alguns pacientes (3), e há diferenças entre a forma permanente e a transitória da doença (tabela 1).

Tabela 1 – Fatores de risco para hipotireoidismo congênito

Hipotireoidismo congênito permanente	Hipotireoidismo congênito transitório
Idade da mãe à época do parto > 40 anos	Prematuridade
Gestação prolongada	Baixo peso ao nascimento
Gestação gemelar	Gestação gemelar
Pais com hipotireoidismo ou bócio	Pais com hipotireoidismo ou bócio
Sexo feminino	Mãe usando drogas antitireoidianas
Outras anormalidades congênitas	Outras anormalidades congênitas
	Mãe com autoanticorpos antitireoidianos em níveis elevados
	Exposição a excesso de iodo

Um levantamento realizado na Escócia entre 1979 e 1993 encontrou malformações congênitas extratireoidianas muito mais frequentemente em pacientes com hipotireoidismo congênito transitório do que naqueles com hipotireoidismo congênito permanente (13).

2.2.2 Etiologia

Na maioria dos pacientes com hipotireoidismo neonatal o diagnóstico etiológico exato não pode ser feito. A etiologia da doença em geral define se o hipotireoidismo congênito será permanente ou transitório, primário ou central e se haverá outros órgãos ou sistemas envolvidos (17).

Hipotireoidismo congênito transitório pode ser causado por fatores maternos ou neonatais (17), genéticos ou não genéticos (imunológicos, ambientais ou iatrogênicos). É mais comum em situações de deficiência ou exposição excessiva ao iodo ou pela transferência materno-fetal de autoanticorpos ou medicamentos (amiodarona, drogas antitireoidianas) (10,21,22,29-33). Em muitos casos a causa permanece desconhecida (4). Causas genéticas de disfunção tireoidiana congênita transitória são identificadas muito raramente (34).

Entre os fatores não genéticos devem ser considerados (quadro 1):

- exposição fetal a drogas antitireoidianas usadas pela gestante no tratamento do hipertireoidismo, o que pode resultar em síntese hormonal tireoidiana insuficiente no recém-nascido, a qual pode durar de poucos dias até 2 semanas (17);
- transporte materno-fetal de anticorpos bloqueadores do receptor do TSH, que podem bloquear a tireoide fetal, cuja função pode permanecer insuficiente até 3 a 6 meses após o nascimento (30,32,33). Tais anticorpos podem ocorrer em mães portadoras de doença de Graves (bócio difuso tóxico), tireoidite de Hashimoto (tireoidite linfocítica crônica) e outras causas de hipotireoidismo adquirido cursando com autoimunidade tireoidiana (35);
- deficiência materno-fetal de iodeto em pacientes procedentes de áreas iodo-insuficientes (25). Essa é a causa mais comum de hipotireoidismo congênito transitório em todo o mundo, especialmente em bebês prematuros (36,37);
- excesso de exposição ao iodeto pelo uso de amiodarona pela gestante. O hipotireoidismo pode persistir por até 4 a 5 meses após o nascimento (38,39);

- excesso de exposição ao iodeto pelo uso de compostos antissépticos ou contraste radiológico iodado. Nessa situação ocorre o efeito Wolff-Chaikoff – inibição da síntese de T4 pelo excesso de iodo inorgânico intracelular. O efeito pode persistir por aproximadamente 10 dias e é seguido por escape da supressão e restauração da organificação normal do iodeto (31,40,41);
- causas raras como nefrose perdedora de proteína (42), hemangiomas hepáticos produzindo grande quantidade de desidase tipo 3 e resultando em hipotireoidismo por consumo metabólico hormonal (43), e presença de anticorpos anti-hormônio tireoidiano – dirigidos contra triiodotironina (T3) e T4 (44).

Prematuridade e baixo peso ao nascimento são listados como fatores de risco para hipotireoidismo congênito transitório, mas não se demonstrou relação causal com a doença (45,46).

Quadro 1 - Fatores etiológicos não genéticos para hipotireoidismo congênito transitório

HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO TRANSITÓRIO DE ORIGEM NÃO GENÉTICA
Uso de drogas antitireoidianas pela gestante
Transferência materno-fetal de anticorpos bloqueadores do receptor de TSH
Deficiência de iodo materna e/ou fetal
Hemangioma hepático/hemangioendotelioma
Nefropatia perdedora de proteína
Anticorpos contra hormônios tireoidianos

Vários pacientes com hipotireoidismo congênito transitório não apresentam nenhum dos fatores de risco descritos acima. Na última década tais pacientes vêm sendo estudados e a presença de anormalidades genéticas foi diagnosticada em alguns deles. Relação causal entre algumas dessas alterações e a deficiência hormonal tireoidiana transitória já foi demonstrada (34,47), e é possível que alterações genéticas ainda desconhecidas também estejam envolvidas na fisiopatologia da doença em pacientes em que não se pode determinar a etiologia.

2.3 DESENVOLVIMENTO TIREOIDIANO

As células foliculares tireoidianas se originam de um espessamento endodérmico no assoalho da faringe primitiva. Tais células migram em direção caudal e, juntamente com células dos corpos ultimobranquiais que darão origem às células C ou parafoliculares produtoras de calcitonina (1), se posicionam na região anteroinferior do pescoço por volta da sétima semana de gestação (48).

Durante a organogênese e a morfogênese tireoidianas ocorre, de modo específico temporal e espacialmente, a expressão de genes que codificam fatores de transcrição importantes para o recrutamento das células do assoalho da orofaringe que originam a tireoide primitiva (especificação ou determinação), migração e diferenciação dessas células para formar a tireoide normal (1,48). Os fatores de transcrição NKX2-1 (TTF1), FOXE1 (TTF2) e PAX8 são indispensáveis ao desenvolvimento normal da glândula, regulando a transcrição dos genes da tireoglobulina, tireoperoxidase, proteína NIS, pendrina, *THOX2*, *TSHR* e outros (1,50).

Mutações nos diversos genes envolvidos na organogênese e morfogênese tireoidiana manifestam-se fenotipicamente de acordo com a expressão e função dos mesmos nas diversas etapas do desenvolvimento embrionário e fetal (48,49). Alterações nos genes responsáveis por etapas mais precoces podem resultar em agenesia tireoidiana (ausência de tecido tireoidiano detectável). Alterações em genes expressos em etapas posteriores podem resultar em ectopia tireoidiana (tecido tireoidiano detectável fora do sítio anatômico normal da glândula), hipoplasia tireoidiana (tecido tireoidiano presente, normolocalizado, porém reduzido em tamanho, geralmente por hipoplasia de células foliculares), disormonogênese (deficiência de síntese hormonal tireoidiana) (1,8,34,50) ou resistência hormonal (51).

A confirmação de que um subgrupo de pacientes portadores de hipotireoidismo congênito tem mutações em fatores de transcrição envolvidos na organogênese tireoidiana vem sendo estabelecida por estudos populacionais (52,53).

2.4 CAUSAS GENÉTICAS DE HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO

Causas genéticas de hipotireoidismo congênito devem ser aventadas com base na história familiar, diagnóstico de disormonogênese ou detecção de anormalidades congênitas concomitantes (54). A prevalência de mutações nos genes candidatos conhecidos é seguramente subestimada, considerando que mutações em geral são pesquisadas nas regiões codificadoras do gene, podendo ficar sem diagnóstico mutações nos íntrons ou em regiões regulatórias. Mutações em heterozigose nesses genes podem ser causa importante de anormalidades no desenvolvimento tireoidiano quando associadas a outros achados dismórficos (2).

Alguns pacientes são portadores de anormalidades em genes ainda não identificados. Em outros casos a etiologia do hipotireoidismo congênito pode ser poligênica ou multifatorial (7). Pela análise da expressão gênica nas estruturas embrionárias (55), em estudos com camundongos *knock-out* e mutações relacionadas em humanos é possível, através do fenótipo, apontar genes candidatos na etiologia da doença (tabela 2). Desse modo, as características fenotípicas podem direcionar os testes genéticos.

Associa-se a agenesia tireoidiana alterações nos genes dos fatores de transcrição *NKX2-1*, *FOXE1*, *PAX8* e *HHEX* (1). Associa-se a hipoplasia tireoidiana mutações em heterozigose no *NKX2-1* ou *PAX8* e mutações com perda de função no gene do *TSHR* (1). Alterações na síntese hormonal tireoidiana (disormonogêneses) podem estar associadas a mutações no gene da proteína *NIS* (56), da tireoglobulina (8) ou da tireoperoxidase, apresentando-se geralmente com bócio (50).

A combinação de anormalidades da tireoide, pulmões e cérebro pode ocorrer com alteração no gene *NKX2-1* (previamente denominado *TTF1*) (57), identificado como responsável pela expressão tireoidiana específica de tireoglobulina e tireoperoxidase (1,57,58). Com haploinsuficiência do gene *NKX2-1* os achados clínicos mais proeminentes são neurológicos (hipotonia e discinesia), em geral mais severos do que a disfunção tireoidiana (57,59). Portadores heterozigotos podem apresentar hipotireoidismo congênito leve com tireoide de tamanho e localização normais (58-60). A penetrância incompleta e a variabilidade do fenótipo podem ser devidas ao efeito de genes modificadores, assim como de fatores epigenéticos (1).

Tabela 2 – Defeitos genéticos associados a desenvolvimento tireoidiano e/ou síntese hormonal tireoidiana anormal*

Fenótipo	Gene(s)	Herança	Cromossomo
Agenesia com palato fendido, atresia de coana e cabelos espetados	<i>FOXE1</i>	AR	9q22
Hipoplasia ou ectopia	<i>PAX8</i>	AD	2q12-q14
Hipotireoidismo central	Outros, não identificados		
Deficiência hormonal hipofisária combinada	<i>PROP1</i>	AR	5q
	<i>POU1F1(P1T1)</i>	AR, AD	3p11
	<i>LHX3</i>	AR	9q34.3
	<i>HESX1</i>	AR, AD	3p21.2-21.1
	Outros, não identificados		
Hipotireoidismo central	<i>TRH?</i>	AR	3p
Deficiência isolada de TRH	Mutação não identificada		
Hipotireoidismo central	<i>TRHR</i>	AR	8p23
Ausência de ascensão de TSH e PRL em resposta ao TRH			
Hipotireoidismo central	<i>TSHβ</i>	AR	1p13
Ausência de ascensão de TSH em resposta ao TRH			
Hipertireotropinemia eutireoidiana	<i>TSHR</i>	AR	14q13
Hipotireoidismo com hipoplasia	Outros, não identificados		
Pseudo-hipoparatiroidismo Ia	<i>GNAS1</i>	AD + <i>imprinting</i>	20q13.2
Bócio, deficiência de captação do iodeto	<i>NIS</i>	AR	19p12-13.2
Bócio, surdez sensorineural (Síndrome de Pendred)	<i>PDS/SCL26A4</i>	AR	7q31
Defeito parcial de organificação			
Bócio, defeito de organificação	<i>TPO</i>	AR	2p25
Bócio, defeito de organificação	<i>DUOX2</i>	AD?	15q15
	Outros, não identificados		
Bócio, deficiência quantitativa/qualitativa de TG	<i>TG</i>	AR, AD?	8q24
Bócio, perda de MIT e DIT	<i>DEHAL1</i>	AR, AD?	6q
Disfunção tireoidiana, ataxia, insuficiência respiratória	<i>NKX2-1</i>	haploinsuficiência	14q13
Resistência ao hormônio tireoidiano	<i>MCT8</i>	ligada ao X	Xq13.2
Resistência ao hormônio tireoidiano com hipo e hipertireoidismo	<i>TRβ</i>	AR, (AD)	3p24.3
	Outros, não identificados		

*Adaptado de Kopp (7).

AR – autossômica recessiva; AD – autossômica dominante; demais abreviaturas: ver lista de siglas.

Em casos familiares de hipoplasia tireoidiana mutações nos genes *PAX8* (de transmissão dominante) e *TSHR* (de transmissão recessiva) devem ser consideradas. O fator de transcrição *PAX8*, além do desenvolvimento tireoidiano, está relacionado à expressão dos genes da tireoperoxidase e da tireoglobulina. Mutações no *PAX8* com perda de função em humanos podem ser sintomáticas em heterozigotos, levando a vários graus de hipoplasia tireoidiana (1,61,62). Tais mutações já foram associadas a fenótipos variados, sugerindo penetrância e/ou expressividade variável ou ainda ação de fatores ou genes interferentes que podem modular a expressão fenotípica (63), descrevendo-se inclusive mutações compatíveis com desenvolvimento morfológico da glândula próximo do normal (glândula de dimensões normais, normolocalizada, porém com função deficiente) (64). Disfunção tireoidiana congênita causada por mutações no gene *PAX8* pode se apresentar como hipotireoidismo sindrômico ou não sindrômico (54). Anomalias renais associadas a hipotireoidismo congênito são altamente sugestivas de envolvimento do gene *PAX8* na etiologia (55).

NKX2-5 é fator de transcrição essencial para a morfogênese cardíaca e que se expressa precocemente no primórdio tireoidiano (1). Há relatos de casos de disgenesia tireoidiana associada a mutações no *NKX2-5*, porém não se sabe se tais mutações isoladamente podem causar hipotireoidismo congênito.

Mutações no gene *FOXE1* (previamente denominado *TTF2*), proteína nuclear específica da tireoide que reconhece uma sequência de DNA presente nos promotores da tireoglobulina e tireoperoxidase, causam a síndrome de Bamforth-Lazarus (65), caracterizada por palato fendido, cabelos espetados e ausência da glândula tireoide (atireose) com ou sem atresia de coanas e epiglote bífida. Relato de caso de paciente portador de mutação nova no gene *FOXE1* com palato fendido, atresia de coanas, cabelos espetados e tecido tireoidiano normolocalizado porém não funcionando foi publicado por Baris e colaboradores. (66).

2.4.1 Hipotireoidismo congênito transitório de origem genética

A primeira demonstração científica de que o hipotireoidismo congênito transitório poderia ser geneticamente determinado foi publicada em 2002 por Moreno e colaboradores, que descreveram mutações no gene que codifica a DUOX2 (primeiramente chamada tireo-oxidase 2 ou THOX2), uma das proteínas

responsáveis pela geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na tireoide (34). Na presença de H_2O_2 a tireoperoxidase (TPO) catalisa a incorporação do iodeto à tireoglobulina (TG), processo denominado organificação, produzindo monoiodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT), que participam de uma combinação de reações de acoplamento, também na presença de H_2O_2 , para originar T3 e T4 (67) (figura 1).

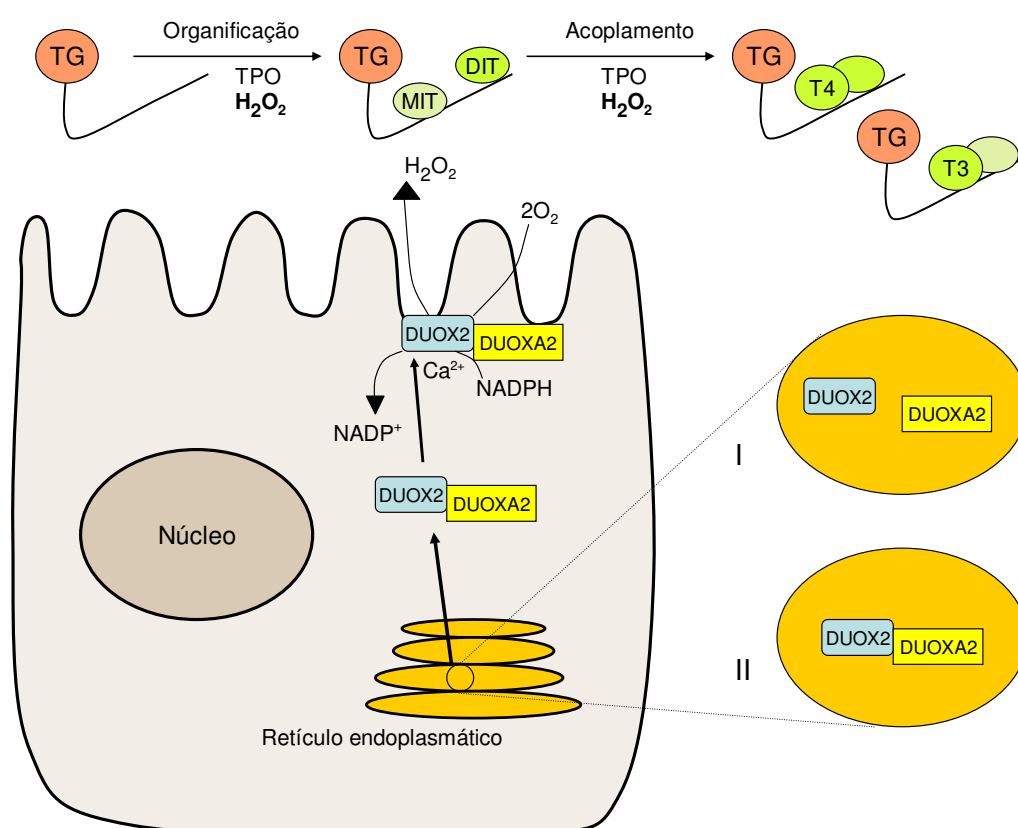


Figura 1 – Representação esquemática da DUOX2 e DUOXA2 no sistema tireoidiano de geração de H_2O_2 . I – DUOX2 e DUOXA2 no retículo endoplasmático (RE); II – associação DUOX2 X DUOXA2 (heterodimerização) no RE. Adaptada sob permissão de Ohye, H. e Sugawara, M. (67).

As tireo-oxidases (DUOX1 ou THOX1 e DUOX2 ou THOX2), cujos genes estão localizados no braço longo do cromossomo 15 (68), são componentes do sistema tireoidiano de geração de H_2O_2 (67,69,70). Na tireoide a expressão da DUOX2 é mais abundante do que a da DUOX1. Ambas as tireo-oxidases permanecem no retículo endoplasmático, onde interagem e formam heterodímeros com os fatores de maturação das tireo-oxidases (DUOXA1 e DUOXA2, cujos genes

também são mapeados no braço longo do cromossomo 15) para serem translocadas para a membrana apical da célula folicular tireoidiana, onde exercem plenamente sua atividade enzimática para a geração de H_2O_2 (68,71,72).

Em seu estudo, Moreno e colaboradores pesquisaram a presença de anormalidades nos genes *DUOX1* e *DUOX2* em um paciente com hipotireoidismo congênito permanente e em oito pacientes com hipotireoidismo congênito transitório, todos portadores de defeitos da organificação (34). Mutações em homozigose no gene *DUOX2* que geram um sinal de terminação prematuro foram encontradas no paciente com hipotireoidismo congênito permanente e defeito completo de organificação. Duas mutações em heterozigose no gene *DUOX2* que geram um códon de parada prematuro e deleção monoalélica de GTTC na posição 2895 (2985-2898del) no exon 21 do gene *DUOX2* (introduzindo uma alteração no quadro de leitura que gera um sinal de terminação no exon 22) foram encontrados em 3 dos 8 pacientes com hipotireoidismo congênito transitório e defeito parcial da organificação estudados. Demonstrou-se que defeitos genéticos podem causar disfunção tireoidiana congênita transitória e que disormonogênese pode estar envolvida na forma transitória da doença.

Em 2008 Maruo e colaboradores publicaram estudo no qual descreveram 8 mutações bialélicas diferentes do gene *DUOX2* em 8 pacientes de 4 diferentes famílias com hipotireoidismo congênito transitório e demonstraram que mesmo a completa inativação do gene *DUOX2* não necessariamente implica em que a doença seja permanente (47). As mutações eram monoalélicas nos pais dos pacientes. Tais resultados sugerem que compensação parcial da deficiência enzimática por mecanismos até então desconhecidos pode suprir a geração de H_2O_2 para a adequada organificação no processo de síntese hormonal tireoidiana em períodos de baixa necessidade hormonal. Entretanto, tal mecanismo de compensação pode ser insuficiente em fases de maior demanda hormonal, como o período neonatal ou outros períodos ao longo da vida, quando tais pacientes podem desenvolver hipotireoidismo.

Recentemente Hoste e colaboradores descreveram o caso de um paciente com hipotireoidismo congênito transitório causado por completa inativação do gene *DUOX2* por deleção parcial de um alelo herdado da mãe associado a uma mutação no alelo herdado do pai (73). Esses autores sugerem que a natureza permanente ou transitória do hipotireoidismo não se deve diretamente ao número de alelos do gene

DUOX2 inativados, e que é possível que outros fatores estejam envolvidos na fisiopatologia do hipotireoidismo congênito transitório nesses pacientes.

Em 2008 Zamproni e colaboradores, estudando 11 pacientes com defeitos parciais da organificação, identificaram em um deles a primeira mutação no gene *DUOX2*, cujo produto (fator de maturação da *DUOX2*), como mencionado anteriormente, é necessário para a atividade enzimática da *DUOX2* na membrana apical da célula folicular tireoidiana (74). O paciente tinha bócio e disormonogênese, com hipotireoidismo permanente leve quando comparado com pacientes com mutações no gene *DUOX2* previamente descritos. A análise do heredograma sugeriu herança recessiva, pois os portadores heterozigotos tinham função tireoidiana normal e teste de triagem neonatal com resultado negativo. Comparando os dados com os descritos por Moreno em 2002, os pesquisadores concluíram que alterações monoalélicas no gene *DUOX2* não parecem resultar em haploinsuficiência, diferentemente dos pacientes com defeitos em heterozigose no gene *DUOX2*, sugerindo-se que a deficiência de *DUOX2* poderia ser compensada pela *DUOX1*, que poderia alternativamente ativar a *DUOX2*.

O paciente descrito por Zamproni tinha hipotireoidismo congênito permanente, mas outro relato de caso recentemente publicado por Hurler e colaboradores descreveu uma nova mutação no gene *DUOX2* encontrada em estado heterozigoto composto em associação com uma grande deleção compreendendo os genes *DUOX2*, *DUOX2* e *DUOX1* em um paciente com hipotireoidismo congênito transitório (75). O paciente descrito pelo grupo também era portador de bócio (compatível com disormonogênese) e, além de deficiente em *DUOX2*, tinha falta de um dos alelos *DUOX2* e *DUOX1*, mas tinha dois alelos *DUOX1* funcionantes. Esse foi o segundo relato de caso de mutação no gene *DUOX2* em criança com hipotireoidismo congênito leve, sugerindo que um único alelo *DUOX1* funcionante pode prover capacidade de síntese hormonal tireoidiana. A manutenção do eutireoidismo nos membros daquela família ilustra o alto grau de redundância no sistema *DUOX/DUOX1* para garantir função tireoidiana normal e suficiente.

Em 2005 Niu e colaboradores em Taiwan documentaram a detecção de mutação no gene que codifica a TPO em taxa de ocorrência de 1:13 bebês com hipotireoidismo congênito transitório, muito mais alta do que a taxa de ocorrência de 1:200 para a mesma mutação em controles pareados (76). Além disso, nas famílias dos pacientes havia grande incidência de tireoidopatias. Os resultados confirmam

que portadores daquela mutação no gene *TPO* têm maior risco para hipotireoidismo congênito transitório e sugerem fortemente que a mesma contribui para o desenvolvimento da doença. Os autores afirmam que a etiologia do hipotireoidismo congênito transitório é multifatorial, envolvendo o estresse de adaptação extra-uterina e/ou o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide imaturo em pacientes geneticamente predispostos, combinados a fatores desencadeantes ambientais como diferenças na iodo-suficiência. Eles também propõem a hipótese de que mutações em outros genes envolvidos na síntese ou na regulação hormonal tireoidiana, como o gene da tireoglobulina, o gene do receptor do TSH e da proteína NIS, podem estar ligadas à predisposição ao hipotireoidismo congênito transitório.

2.4.2 Hipotireoidismo congênito associado a alterações nos cromossomos 8 e 16

O gene da tireoglobulina (*TG*), proteína fundamental para a síntese hormonal tireoidiana e armazenamento de iodo e hormônios tireoidianos, está mapeado em 8q24.2. Mutações nesse gene têm sido descritas em humanos e em modelos animais, associadas a hipotireoidismo congênito com bócio (77).

Relato de associação de hipotireoidismo à síndrome de Townes-Brocks, síndrome de transmissão autossômica dominante com malformação da orelha externa, perda auditiva sensorio-neural, anomalias dos dedos, pés planos e malformações anorretais, às vezes com retardo mental leve a moderado, foi publicado em duas ocasiões (78,79). O gene para a síndrome de Townes-Brocks foi mapeado em 16q12.1.

Caso de portador de translocação críptica familiar – translocação não balanceada submicroscópica t(8;16) no probando e balanceada em seu pai e em tia paterna – motivado por observação clínica de síndrome complexa com disfunção tireoidiana, esclerose tuberosa (genes determinantes mapeados em 9q34 e 16p13.3), doença policística renal (gene mapeado no cromossomo 16p13.3, adjacente ao *locus* do gene da esclerose tuberosa) e hipomelanose de Ito (síndrome de genes contíguos) foi publicado por Eussen e colaboradores (80).

Caso de haploinsuficiência causada por microdeleção do gene *ZNF764* (mapeado no braço curto do cromossomo 16) associado a resistência hormonal tireoidiana e resistência parcial androgênica e aos glucocorticoides acaba de ser

relatado (81). O paciente do estudo de Kino e colaboradores tinha genitália ambígua com pênis pequeno, bolsa escrotal bífida, criptorquidia e hipospádia diagnosticados ao nascimento. Mais tarde recebeu o diagnóstico de autismo, notou-se dolicocefalia, hipertelorismo, micropênis e bolsa escrotal pequena e hipodesenvolvida. Resistência androgênica parcial foi diagnosticada pelos sinais físicos (notadamente pelas alterações genitais) e resistência aos glucocorticoides e hormônios tireoidianos pelo perfil hormonal (concentração elevada de TSH e normal de T4).

2.5 HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO E MALFORMAÇÕES NÃO TIREOIDIANAS

Ocorrência de malformações não tireoidianas em pacientes com hipotireoidismo congênito vem sendo relatada com maior prevalência do que na população geral (10,12,13,15,16), sendo encontradas muito mais frequentemente em pacientes com hipotireoidismo congênito transitório do que naqueles com hipotireoidismo congênito permanente (13). As anormalidades cardíacas e dos grandes vasos são as mais frequentes (16). Também foram relatadas malformações do sistema nervoso central, palato, sistema digestório, malformações urológicas, anormalidades musculoesqueléticas, genitais, da pele e dos olhos (15).

O estudo de uma grande série de pacientes na França diagnosticou malformações congênitas não tireoidianas em 8,2% dos pacientes portadores de hipotireoidismo congênito e em 2,5% dos indivíduos na população geral (12). Outro estudo, na Escócia, relatou a presença de malformações congênitas não tireoidianas em 14,8% dos pacientes com hipotireoidismo congênito transitório estudados e em 5,4% dos pacientes com hipotireoidismo congênito permanente (13).

Anormalidades congênitas múltiplas em portadores de hipotireoidismo congênito sugerem defeito muito precoce no desenvolvimento embrionário, com conseqüente envolvimento de diferentes órgãos e estruturas. Considera-se também a possibilidade de influência de eventos epigenéticos na etiologia da doença (82).

Hipotireoidismo congênito faz parte da síndrome de Young-Sympton, caracterizada pela disfunção tireoidiana, cardiopatia congênita, dismorfismo facial, criptorquidia nos meninos, hipotonia, retardo mental e déficit de crescimento (83).

Hipotireoidismo foi também proposto como componente da síndrome PHACES (doença neurocutânea caracterizada pela coexistência de grandes hemangiomas faciais e ao menos um dos seguintes: malformação da fossa

posterior, anomalias cardíacas e arteriais, anomalias oftálmicas ou fenda esternal). Um grupo de pesquisadores na Itália documentou a presença de insuficiência tireoidiana em metade dos pacientes portadores da síndrome, alguns com hipotireoidismo congênito (84).

Além da síndrome de Bamforth-Lazarus e das demais associações sindrômicas já citadas resultantes de alterações nos genes candidatos já conhecidos relacionados a hipotireoidismo neonatal, publicou-se relato de associação de hipotireoidismo congênito e anormalidade venosa pulmonar à síndrome de Fraser, doença de transmissão recessiva causada por mutação no gene *FRAS1*, localizado no braço longo do cromossomo 4 (4q21), caracterizada por criptoftalmo, sindactilia cutânea, malformações laríngeas e gêrito-urinárias, dismorfismo craniofacial, retardo mental e anomalias musculoesqueléticas (85).

2.6 TRIAGEM NEONATAL PARA HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO

A triagem neonatal para hipotireoidismo congênito começou a ser realizada em meados da década de 1970 (19). A amostra de sangue deve ser idealmente coletada entre 48 horas e 4 dias após o nascimento, havendo três abordagens aceitas, todas com dosagens hormonais realizadas em amostra de sangue recolhida em papel filtro obtida por punção do calcanhar do recém-nascido: dosagem apenas de TSH, dosagem apenas de T4 e dosagem concomitante de TSH e T4, esta última com menor taxa de resultados falso-negativos (10).

2.6.1 Causas de falha diagnóstica na triagem neonatal

Além das limitações da metodologia de triagem empregada (dosagem apenas de TSH não diagnostica os casos de hipotireoidismo central; dosagem apenas de T4 pode não diagnosticar os pacientes com hipotireoidismo primário subclínico), há causas bem conhecidas de falha diagnóstica ao teste de triagem neonatal para hipotireoidismo congênito (10).

Coleta muito precoce da amostra (antes de 48 h de vida, quando o TSH está fisiologicamente elevado) pode resultar em triagem falso-positiva. Quando o recém-nascido se encontra gravemente doente, quando ocorre mistura de sangue entre

gêmeos monozigóticos (82), após transfusão de sangue ou em crianças nascidas com baixo peso (86) podem-se obter resultados falso-negativos.

Testes com resultado falso-negativo podem ainda resultar de amostra de sangue insuficiente, de erro humano no processamento de amostras ou de registro incorreto dos resultados (10).

Visando minimizar as chances de falha diagnóstica, alguns programas de triagem neonatal realizam rotineiramente coleta de amostras de sangue em dois momentos (nos primeiros dias de vida e com 2 a 6 semanas de idade) (10). Esses programas relatam que o diagnóstico de hipotireoidismo congênito é feito apenas pela análise da segunda amostra em cerca de 10% dos afetados. As crianças identificadas apenas na segunda triagem tendem a apresentar hipotireoidismo mais leve ou de evolução mais lenta (10), retardo na elevação do TSH ou baixo peso (peso ao nascimento após gestação a termo menor do que 2.500 g) (22,76,87-89).

Larson e colaboradores realizaram análise retrospectiva de pacientes com hipotireoidismo congênito com retardo de elevação do TSH (resultado falso-negativo ao teste de triagem neonatal), detectando incidência da doença 14 vezes maior (1:250) em recém-nascidos com muito baixo peso (peso ao nascimento menor do que 1.500 g) quando comparados àqueles com peso maior (1:3.500). Nesse estudo, entre as crianças nascidas com muito baixo peso dois terços dos casos de hipotireoidismo congênito não foram diagnosticados à triagem realizada aos primeiros dias de vida (86).

Outra causa de falha diagnóstica da triagem neonatal para hipotireoidismo congênito está relacionada aos valores de corte para as dosagens de TSH e T4 (90). Estudo realizado medindo taxa metabólica basal sugeriu que TSH sérico considerado normal no bebê (entre 7 e 10 $\mu\text{U/ml}$) pode se associar a hipometabolismo e hipotireoidismo tecidual, o qual pode ser prontamente revertido com reposição de levotiroxina (91).

Em razão da preocupação com a possibilidade de resultados falso-negativos, alguns serviços reduziram os níveis de corte para o valor de TSH diagnóstico de hipotireoidismo congênito nas amostras colhidas por punção do calcanhar, o que pode resultar em maior necessidade de reconvocação de pacientes para dosagem sérica de TSH e hormônios tireoidianos, porém menor número de pacientes com hipotireoidismo congênito não diagnosticado ao teste de triagem (90,92-96).

Os níveis de elevação do TSH ao teste de triagem não têm relação com a permanência ou transitoriedade do hipotireoidismo congênito. Já foi demonstrado que mesmo pequenas elevações no TSH não são necessariamente preditoras de hipotireoidismo congênito transitório, podendo ocorrer em pacientes que necessitarão de reposição hormonal tireoidiana por toda a vida, assim como alguns pacientes com grande elevação de TSH sérico (50 a 583 $\mu\text{U/ml}$) posteriormente se comprovam portadores de hipotireoidismo congênito transitório (90,97,98).

2.6.2 Triagem neonatal para hipotireoidismo congênito no Brasil

A triagem neonatal para doenças congênitas no Brasil iniciou-se em 1974 com a triagem para fenilcetonúria e em 1978 para hipotireoidismo congênito, na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de São Paulo (SP) (99). Em 1983 no estado de São Paulo e em 1985 no Rio de Janeiro foram promulgadas leis regulamentando a matéria, as quais não foram cumpridas de imediato. A sistematização dos trabalhos foi iniciada de fato por volta de 1990, amparada pela obrigatoriedade prevista no Estatuto da Criança e do Adolescente em seu artigo 10º (100). No ano de 2001 o Ministério da Saúde publicou a Portaria GM/MS n.º 822/GM, criando o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) (101), vinculado à Coordenação Geral de Média Complexidade Ambulatorial (CGMCA), dentro do Departamento de Atenção Especializada (DAE) da Secretaria de Atenção à Saúde (SAS) (102).

Em Mato Grosso do Sul, estado de nascimento do probando, a primeira lei estadual regulamentando a triagem neonatal para doenças congênitas foi promulgada em 1991, tendo-se iniciado a triagem para hipotireoidismo congênito com a dosagem de TSH, à qual foi acrescida a dosagem de T4 em 1997 (103,104).

3 OBJETIVOS

Objetivo geral: descrever a ocorrência de hipotireoidismo neonatal transitório e anormalidades congênitas extratireoidianas associados a anormalidades cromossômicas em uma criança do sexo masculino.

Objetivos específicos:

- descrever as alterações fenotípicas, a evolução clínica e as anormalidades genéticas do probando;
- descrever as anormalidades diagnosticadas em seu tio falecido aos 10 meses de idade portador de fenótipo semelhante;
- investigar alterações genéticas e, se diagnosticadas, investigar possíveis anormalidades tireoidianas e extratireoidianas nos familiares do probando;
- investigar a relação entre as anormalidades genéticas e as alterações fenotípicas diagnosticadas nos pacientes descritos.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 SUJEITOS DO ESTUDO

O paciente-índice deste estudo foi pela primeira vez atendido no Ambulatório de Endocrinologia do Posto de Atendimento Médico de Especialidades da Secretaria Municipal de Saúde de Dourados, Mato Grosso do Sul, aos 9 meses de idade, encaminhado pelo pediatra que o assistia desde o nascimento.

Os dados referentes ao probando foram obtidos como parte de procedimentos diagnósticos necessários para seu atendimento e tratamento, compreendendo dados de anamnese e exame físico pelas técnicas habituais e resultados de exames complementares laboratoriais (inclusive análise do cariótipo) e de imagem, além de registros de evolução clínica em prontuário médico. Ainda com fins diagnósticos e de atendimento médico analisou-se o cariótipo dos pais do probando e em seguida de seus avós maternos.

Após aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN) conforme a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (registro do projeto 218/07 – anexo I) e obtenção de termo de consentimento livre e esclarecido de cada um dos sujeitos participantes da pesquisa ou de seus responsáveis legais, obtiveram-se dados clínicos e amostras de sangue para análise do cariótipo de outros familiares do paciente-índice. Daqueles comprovadamente portadores de alterações no cariótipo foram obtidas amostras de sangue para dosagem de TSH, hormônios tireoidianos e autoanticorpos antitireoidianos (anticorpo antitireoglobulina e anticorpo antitireoperoxidase).

Estudou-se e descreveu-se através de anamnese familiar e dados registrados em prontuário médico de internação no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná o caso de tio materno do probando portador de quadro clínico semelhante, falecido com menos de 1 ano de idade.

4.2 ANÁLISE DO CARIÓTIPO

A análise do cariótipo do probando e de seus familiares foi realizada no Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília empregando-se a técnica de cultura temporária de linfócitos modificada de Moorhead e colaboradores (105). Para a obtenção de metáfases utilizou-se meio de cultura RPMI 1640 (Gibco®, EUA) enriquecido com 15% de soro fetal bovino (Invitrogen®, São Paulo – SP), fito-hemaglutinina (Gibco®, EUA) como agente mitogênico e antibióticos (1 mg/ml de estreptomicina e 1 UI/ml de penicilina G potássica). Em câmara de fluxo laminar foi adicionado 0,5 ml de sangue total homogeneizado a dois tubos contendo cada um 5 ml do meio previamente condicionado. As culturas foram em seguida transferidas para estufa (Quimis®, Diadema – SP) regulada a 37° C, onde permaneceram por 72 horas. Às amostras adicionou-se colchicina 0,48 mg e as mesmas permaneceram na estufa por mais 30 a 40 minutos, depois do que o material foi centrifugado a 1000 rpm por 15 minutos, adicionou-se solução hipotônica (cloreto de potássio 0,075M) e foi incubado a 37,5° C por 7 minutos. Procedeu-se a nova centrifugação, removeu-se o sobrenadante e adicionou-se solução fixadora (metanol e ácido acético glacial 3:1). Mais duas centrifugações foram realizadas, preservando-se 0,5 a 1 ml do sedimento concentrado e fixado, o qual foi depositado em lâminas de microscopia, sendo constatada a presença de metáfases.

As lâminas foram preparadas pela técnica de bandamento G utilizando-se enzima proteolítica Sigma 2,5% e submetidas à coloração de Giemsa. A análise microscópica foi empreendida com aparelhos Labomed CXRIII®. As fotografias foram obtidas com microscópio Leica® (Leica, Alemanha) em preto e branco. Para efeitos de exploração metodológica algumas foram submetidas a processamento pelo *software* Cytovision® versão 4.0 (Genetix, EUA). Na descrição das alterações cromossômicas encontradas foi utilizada nomenclatura proposta no International Standing Comittee on Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) (106).

4.3 ANÁLISE CITOGENÉTICA

A análise citogenética foi realizada no Departamento de Genética e Biologia Evolutiva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, após extração, no Laboratório de Farmacologia Molecular da Universidade de Brasília, de ácido desoxirribonucléico (DNA) do sangue periférico do probando colhido por venopunção.

Para a extração do DNA, 50 µl de sangue total foram adicionados a 1 ml de água. A mistura foi homogeneizada e incubada por 5 minutos a temperatura ambiente. O material foi centrifugado por 3 minutos à velocidade de 14.000 rpm à temperatura de 4°C, o sobrenadante foi descartado e o processo foi repetido. A amostra resultante foi adicionada de 200 µl de Chelex 100® (Bio-Rad, EUA) 5%, foi rapidamente agitada e em seguida incubada à temperatura de 56°C por 30 minutos e a 100°C por 8 minutos. O DNA extraído foi armazenado a -20°C e enviado para análise citogenética.

Para a caracterização do rearranjo cromossômico, variações no número de cópias (CNV) dos segmentos de DNA extraído do sangue total do probando foram investigadas usando a técnica de hibridação comparativa do genoma em microarranjos (*CGH-array*) de 60 K *Human Genome Comparative Genomic Hybridization* (Agilent Technologies, Santa Clara – CA, EUA), contendo cerca de 60.000 oligonucleotídeos distribuídos pelo genoma humano. Nessa plataforma de *CGH-array* utilizam-se como sondas os oligonucleotídeos, com distância média entre os mesmos de 31 kb, ou seja, com resolução média de 90 kb. O número mínimo de *probes* aberrantes consecutivos para definir uma anormalidade foi estabelecido em 3.

As amostras de DNA genômico do probando foram marcadas com fluorocromo verde e o DNA de referência (DNA obtido de pacientes-controle da mesma área geográfica) em vermelho. Quantidades iguais das duas amostras foram misturadas, desnaturadas e incubadas em contato com a lâmina do *CGH-array* permitindo sua hibridação com as sondas dispostas em microarranjos nas lâminas de vidro. Os sinais fluorescentes foram capturados por escaneador a *laser* e a intensidade do DNA em cada seqüência-alvo foi quantificada. A interpretação dos dados obtidos pelo escaneador e a comparação entre os resultados do probando e os do DNA de referência foi feita por análise computadorizada. O algoritmo

estatístico ADM-2 foi usado com sensibilidade de 6,7 O tamanho médio para detecção de CNV foi 300 kb.

Os bancos de dados UCSC (<http://genome.ucsc.edu>) e Ensembl (<http://www.ensembl.org>) foram usados para acessar os genes conhecidos mapeados nos segmentos envolvidos.

5 RESULTADOS

5.1 PROBANDO

O probando (indivíduo IV2 no heredograma na figura 2; heredograma completo da família – anexo II) é do sexo masculino, nascido no estado do Mato Grosso do Sul em abril/2000 de união não consanguínea, ao termo de gestação sem intercorrências. Nasceu com 2.250 g (< 3º. percentil), bradicárdico, demorou para chorar. Ao exame físico na sala de parto diagnosticou-se ânus imperfurado, atresia de coana, hérnia umbilical e hipospádia (figura 3). Notaram-se também hipertelorismo ocular e desvio do septo nasal. No primeiro dia de vida foi submetido a correção cirúrgica da anormalidade da coana e da imperfuração anal.

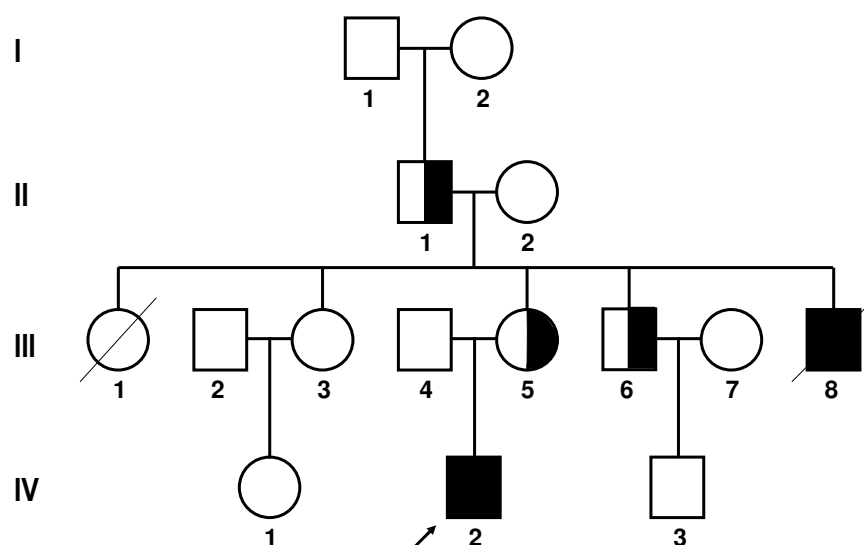


Figura 2 – Heredograma de parte da família do probando. Símbolos preenchidos em preto representam os indivíduos portadores do quadro clínico com síndrome dismórfica e retardo mental associada a hipotireoidismo. Símbolos semi-preenchidos representam indivíduos portadores de translocação balanceada t(8;16). Heredograma da família completa no anexo II.



Figura 3 – Probando nos primeiros dias de vida. Destacam-se hérnia umbilical e hipospádia não corrigida.

Aos 7 dias de vida foi submetido a teste de triagem neonatal para hipotireoidismo congênito, que resultou negativo de acordo com os valores de corte então utilizados (TSH = 7,09 μ U/ml, valor de corte: < 20 μ U/ml; T4 16,4 μ g/dl, intervalo normal de referência: 4,5 – 22,2 μ g/dl).

Aos 3 meses e 16 dias de vida a pele seca, hérnia umbilical e retardo de desenvolvimento neuropsicomotor levaram o pediatra assistente a solicitar novos testes de função tireoidiana. Os resultados das dosagens séricas de TSH (4,97 μ U/ml; intervalo normal de referência: 0,49-4,67 μ U/ml) e T4 livre (indetectável) levaram ao diagnóstico de hipotireoidismo, iniciando-se reposição de levotiroxina (10,1 μ g/kg/dia). Seis semanas depois os testes de função tireoidiana estavam normais, com concentração de TSH e hormônios tireoidianos compatíveis com os alvos terapêuticos recomendados para o tratamento do hipotireoidismo neonatal (10) (tabela 3). Aos 7 meses foi submetido a radiografia das mãos e punhos, documentando-se atraso de idade óssea (era correspondente à idade de 1 mês) compatível com o quadro de hipotireoidismo congênito severo (107).

Aos 9 meses de idade o paciente foi encaminhado para atendimento na especialidade de endocrinologia pelo quadro de hipotireoidismo neonatal associado a alterações extratireoidianas. O cariótipo foi estudado e diagnosticou-se translocação cromossômica não-balanceada (ver abaixo).

Tabela 3 – Dose de reposição de levotiroxina e concentração de TSH e hormônios tireoidianos do probando

Idade	Dose de LT4 (µg/kg/day)	TSH (µU/ml)	T4 livre (ng/dl)	T4 total (µg/dl)	T3 livre (pg/ml)	T3 total (ng/dl)
		0,5-4,5*	0,7-1,9*	4,6-12*	2,30-6,19*	80-270*
7 d	-	7,09**		16,04		
3 m 16 d	-	4,97	indetectável			
4 m 25 d	10,1	0,79	1,18			
6 m 23 d	8,0	0,88	1,43	8,9		214
11 m	4,9	0,55		10,8		150
1 a 2 m	4,3	0,08		12,3		212,3
1 a 4 m	3,8	0,22		8,4		115,3
1 a 6 m	3,0	1,15	1,12		2,7	
1 a 10 m	3,2	1,69		7,9		72,8
2 a	3,5	0,35	1,56		4,3	
2 a 3 m	2,9	1,92	1,4		4,1	
3 a 10 m	2,5	0,53	1,78		3,3	
4 a 1 m	-	4,44	1,04		3	
5 a 7 m	-	2,27	1,08			
7 a 9 m	-	1,54	0,87		3,02	
11 a	-	1,87	0,92			

*Intervalo normal de referência para concentração sérica.

** Valor de corte do TSH no teste de screening neonatal < 20 µU/ml.

Abreviaturas: d = dias, a = ano(s), m = mês(es).

Com 1 ano de idade o paciente andava com apoio, tinha pele seca, hiperqueratose pilar, olhos pequenos, epicanto, desvio do septo nasal e respiração bucal, frênulo lingual longo, fronte pequena, implantação baixa das orelhas, hérnia umbilical, bolsa escrotal rasa, pênis pequeno e hipospádia. Já havia sido submetido a 2 intervenções cirúrgicas para correção parcial da hipospádia, submetendo-se mais tarde a correção de hérnia umbilical, rinoplastia para correção de desvio do septo nasal e a mais uma intervenção cirúrgica para correção da hipospádia (figuras 4 e 5). Até os 4 anos de idade sofreu 2 crises convulsivas durante acessos febris. Tomografia computadorizada do crânio e encéfalo não detectou anormalidades. Estudo ecocardiográfico também resultou normal.



Figura 4 – Probando aos 6 anos de idade.



Figura 5 – Hérnia umbilical e hipospádia parcialmente corrigida.

Entre 1 ano e meio e 4 anos de idade o probando compareceu irregularmente às consultas médicas especializadas. Nenhum dos testes de função tireoidiana realizados durante esse período, em vigência de reposição de levotiroxina, documentou insuficiência de hormônios tireoidianos (tabela 3). Quando atingiu a idade de 4 anos e 2 meses a reposição de levotiroxina foi suspensa para determinação da permanência da disfunção tireoidiana. Ultrassonografia (figura 6) evidenciou tireoide de volume reduzido (0,75 cm³, intervalo normal de referência 1,6-2,91 cm³) (108) com ecotextura parenquimatosa difusamente heterogênea. Cintilografia (figura 7) realizada após 33 dias sem reposição de levotiroxina revelou tireoide tóxica, discretamente reduzida de tamanho, com morfologia preservada, hipocaptante na fase precoce, com captação discretamente menor no lobo esquerdo

em relação ao direito. A concentração sérica de tireoglobulina era normal (17,4 ng/ml, intervalo normal de referência 2,0 a 60,0 ng/ml) e a dosagem sérica de autoanticorpos antitireoidianos (anticorpo antitireoglobulina e anticorpo antitireoperoxidase) resultou indetectável. Desde a suspensão da reposição hormonal tireoidiana o paciente permanece com função tireoidiana normal (tabela 3). A velocidade de crescimento e a estatura do probando também se mantêm normais e aos 12 anos de idade apresenta os primeiros sinais de puberdade.

Dificuldades na marcha em razão de hipertonia muscular e dificuldades de coordenação motora são manejadas com fisioterapia desde a primeira infância, com melhora significativa. O paciente se submete regularmente desde 1 ano de idade a sessões de fonoaudiologia – apesar de ter havido melhora, disartria e a incapacidade de formar frases bem estruturadas ainda comprometem sua capacidade de comunicação. É capaz de escrever seu nome e ler sílabas e palavras simples e tem autonomia para os cuidados pessoais elementares (alimentar-se, banhar-se, vestir-se). As intervenções cirúrgicas resultaram em correção parcial da hipospádia e correção total do desvio do septo nasal.

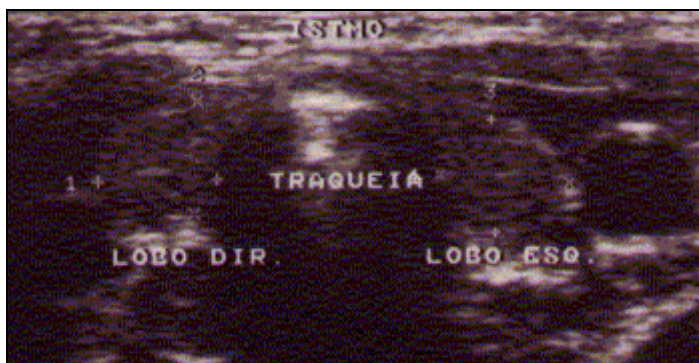


Figura 6 – Ultrassonografia de tireoide realizada quando o probando tinha 4 anos de idade.

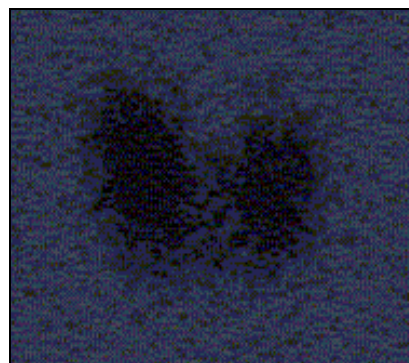


Figura 7 – Cintilografia da tireoide do probando.

5.2 ANÁLISE GENÉTICA

A análise do cariótipo do probando após bandamento G (resolução de 550 bandas) em leucócitos do sangue periférico identificou um cromossomo derivativo 8 der(8) (figura 8), resultado de translocação t(8;16) com pontos de quebra em 8q24.3 e 16q22. Um dos cromossomos do par 16 apresenta grande heterocromatina que representa polimorfismo sem significação clínica (16qh+) (figura 9). A alteração foi herdada de sua mãe, portadora de translocação recíproca balanceada (figura 10). O estudo do cariótipo do pai do probando resultou normal (46,XY). O cariótipo do probando foi então definido como 46,XY,der(8)t(8;16)(q24.3;q22)mat,16qh+.

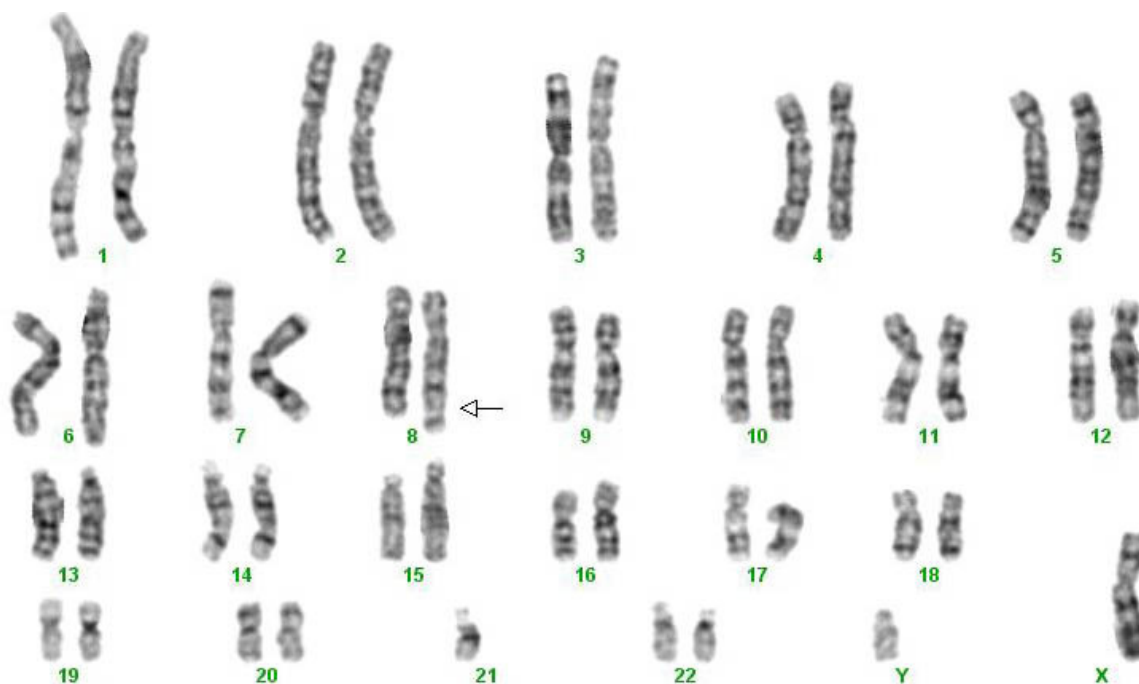


Figura 8 – Cariótipo do probando (46,XY,-8,der(8),t(8;16)(q24.3qter::q22qter)mat). Seta indicando material genético extra em um dos cromossomos do par 8.

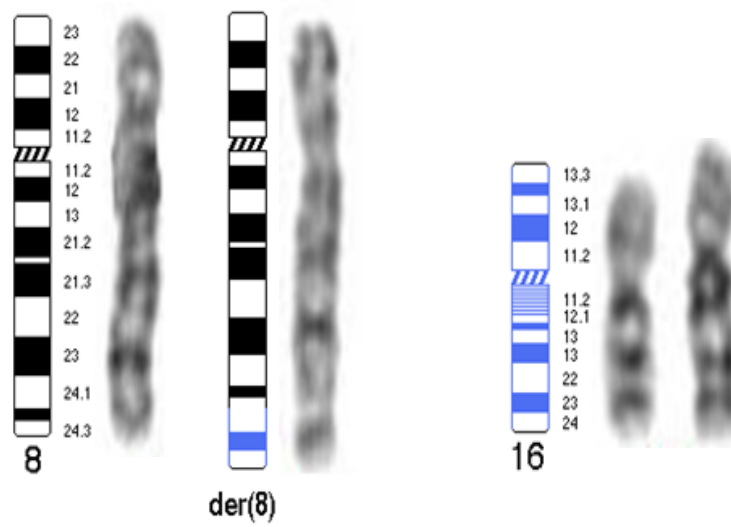


Figura 9 – Cromossomos 8 e 16 (translocados) do cariótipo do probando.

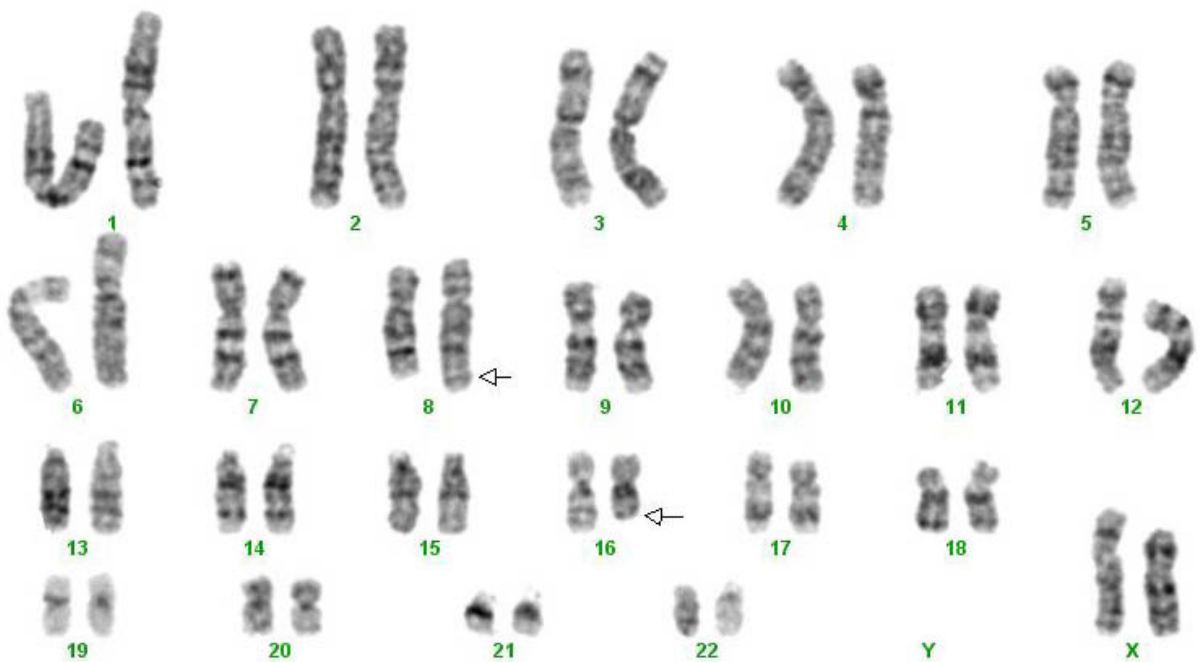


Figura 10 – Cariótipo da mãe do probando (46,XX,t(8;16),der(8)(q24.3qter::q22 qter)). Seta indicando os segmentos translocados nos cromossomos 8 e 16.

Além do probando e seus pais, tiveram também os cromossomos estudados outros 19 membros da família, composta por 47 indivíduos vivos distribuídos em 4 gerações (anexo II). Ao final a translocação equilibrada foi encontrada em 3 indivíduos fenotipicamente normais (a mãe do probando, um tio materno e o avô materno). Os três são portadores de translocação balanceada $t(8;16)$, são assintomáticos e neles não foram diagnosticadas disfunções tireoidianas ou autoimunidade antitireoidiana (dosagens séricas de TSH, T4 livre, T3 livre e tireoglobulina resultaram normais e dosagens de autoanticorpos antitireoglobulina e antitireoperoxidase resultaram abaixo dos limites de detecção pelos métodos laboratoriais utilizados) .

A mãe do probando e seu irmão herdaram a translocação balanceada do pai de ambos, cujos pais ainda estão vivos e têm cariótipo normal. Seis outros membros da família sem anormalidades cromossômicas são portadores de retardo mental, porém causas não relacionadas à doença em estudo foram citadas como explicação para seus déficits cognitivos (2 relataram traumatismo crânio-encefálico prévio, 1 teve meningite na infância, 1 foi atingido por um raio e 2 – uma tia-avó materna do probando e a filha da mesma - não souberam informar possíveis causas para a anormalidade). A prevalência de déficit cognitivo/retardo mental dentre os membros da família foi, portanto, de 8:37, incluindo-se o probando e seu tio falecido na primeira infância.

O estudo por *CGH-array* do DNA do probando revelou deleção terminal de aproximadamente 80 kb no cromossomo 8q24.3qter (chr8: 146164694-146245835 Build 36/Hg18) e duplicação de aproximadamente 21 Mb no cromossomo 16q22qter (chr16: 67957802-88893296 Build 36/Hg18). A região deletada no cromossomo 8 inclui apenas 2 genes conhecidos, *ZNF252* e *C8ORF77*, e um pseudogene putativo, todos com função desconhecida. A duplicação no cromossomo 16 estende-se da banda q22.1qter e inclui aproximadamente 283 genes (NCBI build 36.3, 15 de setembro de 2011). Nenhum gene localizado nesses segmentos foi previamente relacionado a hipotireoidismo.

5.3 TIO MATERNO DO PROBANDO

Um dos irmãos da mãe do probando (indivíduo III8 no heredograma da figura 2), menino nascido no estado do Paraná em 1989 de parto vaginal ao termo da gestação em apresentação pelvi-podálica, pequeno para a idade gestacional (1.900 g, < 3^o. percentil), de pais não aparentados, tinha semelhanças clínicas e fenotípicas com o probando.

A história clínica perinatal registra que o bebê teve icterícia neonatal com duração de 1 semana. Não foi possível obter informações sobre dosagens de TSH e hormônios tireoidianos do período neonatal ou resultado do teste de triagem neonatal. Aos 4 meses de idade hipotireoidismo severo foi diagnosticado e reposição de levotiroxina foi iniciada.

Foi internado por traqueobronquite aos 8 meses de idade e os registros em prontuário médico daquela ocasião registram história de atraso do desenvolvimento psicomotor (riso social manifesto aos 6 meses de vida, sustentou a cabeça aos 7 meses, acompanhou objetos com os olhos aos 7 meses), hipoatividade e mau estado geral. Pesava 4.780 g (3 kg abaixo do segundo desvio-padrão abaixo da média para a idade e sexo), e o comprimento era de 64 cm (coincidindo com o segundo desvio-padrão abaixo da média). A fontanela anterior era ampla (5 X 3,5 cm), o que pode estar relacionado a hipotireoidismo congênito (109). Encontrava-se pálido, hipoativo, não se sentava com apoio, não pegava objetos, tinha prega palpebral oblíqua, epicanto, microstomia, palato ogivóide, micrognatia e os testículos eram retráteis. Estudo ecocardiográfico era normal.

Apesar de estar recebendo reposição de levotiroxina (9,15 µg/kg/dia), o paciente se encontrava hipotireóideo (dosagem sérica de TSH 12,97 µU/ml, normal para a idade pelo método então empregado < 7,0 µU/ml; T4 5,3 µg/dl, intervalo normal de referência 6 – 16,5 µg/dl). Foi realizado no hospital ajuste de dose de reposição de tiroxina.

Dados médicos desse paciente após a alta hospitalar não se encontram disponíveis. Faleceu aos 10 meses de idade. Não foi realizado estudo do cariótipo.

6 DISCUSSÃO

Insuficiência tireoidiana transitória ocorre na minoria dos pacientes com hipotireoidismo congênito (2-4,10). A presença de malformações congênitas extratireoidianas, como ocorreu no probando, é muito mais frequente em pacientes com hipotireoidismo congênito transitório do que naqueles com hipotireoidismo congênito permanente (13). Em geral, a etiologia da doença define se o hipotireoidismo congênito será permanente ou transitório, primário ou central. Do mesmo modo, as anormalidades genéticas também definem se e quais outros órgãos ou sistemas podem ser afetados (17).

O tio materno do probando (III8 no heredograma da figura 2) tinha características clínicas muito similares às do paciente-índice e, apesar de não ter tido o cariótipo estudado, deve-se considerar a possibilidade de que fosse portador de translocação não-balanceada herdada de seu pai. Como faleceu aos 10 meses de idade essa hipótese não pode ser confirmada. Tia materna do probando (III1 no heredograma da figura 2) faleceu aos 2 meses de idade de causa não especificada, não se podendo em anamnese familiar excluir que fosse portadora do mesmo fenótipo dos dois pacientes descritos.

De todos os indivíduos estudados, o probando e seu tio materno falecido eram os únicos portadores de hipotireoidismo, e causas de insuficiência tireoidiana como tireoidopatias auto-imunes não foram encontradas nem no probando nem em seus parentes portadores da translocação balanceada. Em ambos os casos o hipotireoidismo foi detectado aos primeiros meses de vida, era clinicamente significativo e havia sinais para suspeita clínica da doença, os quais em geral estão presentes principalmente nos indivíduos acometidos de insuficiência hormonal tireoidiana mais severa (109). No probando o teste de triagem neonatal foi normal. Seu tio materno nasceu em época anterior ao início dos testes de triagem neonatal rotineiros no local de nascimento.

Um dos desafios que persistem na fisiopatologia das doenças tireoidianas é o diagnóstico etiológico do hipotireoidismo congênito (7). Hipotireoidismo congênito em apresentação familiar, principalmente quando acompanhado de anormalidades extratireoidianas, tem possibilidade de ter etiologia genética (6). O estudo do caso de pacientes pertencentes à mesma família, com elementos fenotípicos similares, retardo do desenvolvimento psicomotor e hipotireoidismo, um comprovadamente e o

outro provavelmente portador de anormalidades cromossômicas, pode contribuir com a base de conhecimento para o estudo do hipotireoidismo neonatal associado a alterações genéticas.

O probando revelou-se portador de hipotireoidismo congênito transitório, mantendo TSH e concentrações de hormônios tireoidianos normais após suspensão da reposição de levotiroxina aos 4 anos de idade. Os fatores comumente implicados na etiologia do hipotireoidismo congênito transitório são improváveis no caso (3): a mãe não fazia uso de medicamentos na gestação, não é portadora de disfunções ou autoimunidade tireoidiana e possível (porém improvável) efeito bloqueador da síntese hormonal pela exposição a compostos iodados (31,40,41) durante as cirurgias a que foi submetido nos primeiros dias de vida não estaria mais ocorrendo à época do diagnóstico (depois de 3 meses de vida).

A etiologia do hipotireoidismo congênito transitório parece ser multifatorial, envolvendo o estresse de adaptação ao ambiente extra-uterino ou imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide em pacientes geneticamente predispostos, combinados a fatores desencadeantes ambientais, como as diferenças na iodo-suficiência. Além disso, mutações em genes envolvidos na síntese hormonal tireoidiana, como o gene da tireoperoxidase (*TPO*), tireoglobulina (*TG*), gene do receptor do TSH (*TSHR*) e da proteína NIS possivelmente estejam associadas a predisposição a hipotireoidismo congênito transitório (76). Entretanto, nenhum desses genes se encontra nos segmentos cromossômicos envolvidos na translocação do probando.

As malformações extratireoidianas encontradas no probando e em seu tio materno eram principalmente de áreas anatômica e/ou embriologicamente adjacentes à tireoide embrionária (à exceção da hipospádia e imperfuração anal do probando e da hérnia umbilical, que pode fazer parte do quadro de hipotireoidismo congênito), sugerindo que algum fator possa ter simultaneamente afetado o desenvolvimento de órgãos adjacentes (12). Algumas das anormalidades extratireoidianas encontradas no paciente, como a hipospádia, atresia de coana e estenose anal já foram descritas em associação com duplicações terminais do cromossomo 16 (110-112), sobrepostas à região duplicada no genoma do probando. Entretanto, nenhum dos pacientes previamente descritos era portador de hipotireoidismo.

Anormalidades genéticas causando doença congênita transitória fazem parte de um conceito relativamente recente e demonstram que doenças geneticamente originadas podem não ser definitivas, manifestando-se apenas em períodos da vida em que não possam ser de alguma forma compensadas. Desde 2002 estudos vêm descrevendo mutações genéticas em pacientes com hipotireoidismo congênito transitório. A maior parte dessas mutações reduz a capacidade de geração tireoidiana de H_2O_2 , e estão mapeadas nos genes *DUOX* e *DUOXA*, no braço longo do cromossomo 15 (34,47,67-75).

A causa do hipotireoidismo neonatal transitório no probando não foi indubitavelmente estabelecida. Nenhum gene candidato já associado a hipotireoidismo congênito transitório encontra-se nos segmentos genômicos envolvidos na translocação do paciente (figura 11). Mesmo o gene da tireoglobulina (*TG*), mapeado no braço longo do cromossomo 8, está fora da região deletada (aproximadamente 12 Mb do ponto de quebra). O probando não tem diagnóstico de malformações esqueléticas como as descritas nas alterações do gene *RECQL4*, que codifica um membro da família de proteínas helicases RecQ e que se localiza na região 8q24.3 (113). Tampouco apresenta características da doença de Charcot-Marie-Tooth (grupo de distúrbios periféricos progressivos do movimento e sensibilidade) (114), já descrita com mutações no gene *NGRD1*, localizado também em 8q24.

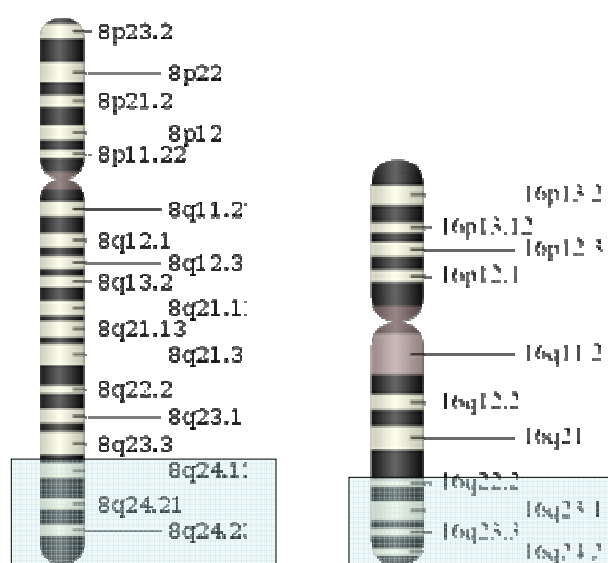


Figura 11 – Representação esquemática das regiões cromossômicas envolvidas na translocação t(8;16) (q24.3qter::q22qter) do probando.

Na translocação balanceada t(8;16) de que é portador o avô materno do probando houve transferência de material genético do braço longo do cromossomo 8 (8q24.3qter) para o braço longo do cromossomo 16 e do braço longo do cromossomo 16 (16q22qter) para o braço longo do cromossomo 8. Os cromossomos translocados foram transmitidos à sua filha (mãe do probando), que também é portadora de translocação balanceada t(8;16). O probando, por sua vez, herdou cromossomos normais de seu pai e herdou de sua mãe um cromossomo 8 anormal e um cromossomo 16 normal. Assim, é portador de deleção terminal de um dos cromossomos do par 8 (monossomia parcial do cromossomo 8) e trissomia parcial do cromossomo 16 (figura 12).

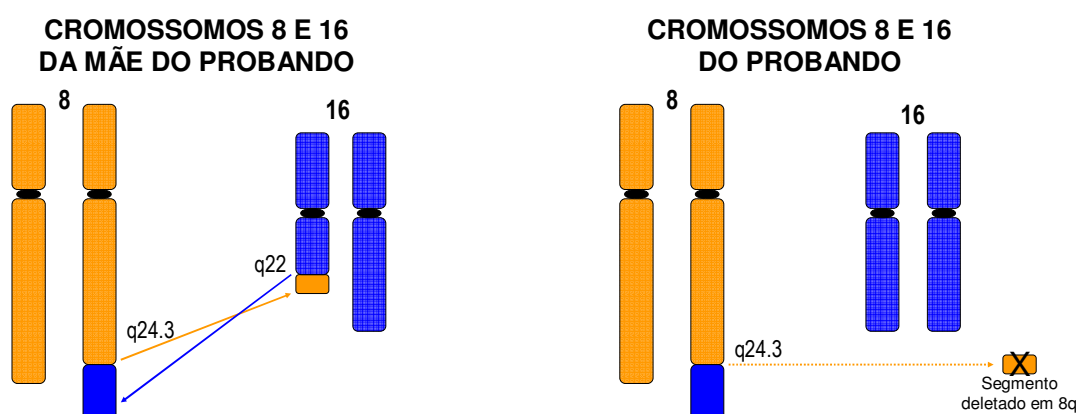


Figura 12 – Representação esquemática da translocação t(8;16) da mãe do probando (balanceada) e do probando (não balanceada).

No probando a disfunção tireoidiana parece ser relacionada à translocação não balanceada t(8;16), já que a translocação balanceada observada em seus parentes não está associada com disfunção hormonal tireoidiana. Considerando o tamanho do segmento duplicado no cromossomo 16, é possível que a trissomia parcial 16q esteja envolvida na etiopatogenia da doença, em especial no que se refere às anormalidades extratireoidianas. Entretanto, não se pode excluir a possibilidade de envolvimento da deleção parcial do cromossomo 8 na fisiopatologia do hipotireoidismo neonatal transitório do paciente, principalmente pois no segmento deletado está mapeado o gene *ZNF252*, que pertence aos *zinc finger genes*, uma das maiores famílias de genes de regulação da transcrição. Apesar de sua função não ser ainda conhecida, o *ZNF252* é altamente expresso na tireoide, o

que sugere que esse gene possa desempenhar função importante nesse órgão (115). Consequentemente, haploinsuficiência do *ZNF252* pode ser causa da disfunção tireoidiana neonatal do probando.

O paciente com haploinsuficiência do gene *ZNF764* (mapeado no braço curto do cromossomo 16) relatado por Kino e colaboradores tinha em comum com o paciente descrito neste estudo a hipospádia (81), porém a anormalidade tireoidiana de que era portador era a resistência hormonal, e não insuficiência hormonal (hipotireoidismo). No caso do paciente descrito por Eussen e colaboradores (com translocação não-balanceada submicroscópica t(8;16)(q24.3;p13.3), hipotireoidismo permanente, esclerose tuberosa, complexo da esclerose tuberosa, doença policística renal do adulto e hipomelanose de Ito), a etiologia da disfunção tireoidiana não ficou esclarecida (80). Os parentes daquele paciente já eram portadores de tireoidopatias diagnosticadas (o pai do paciente tinha bócio nodular tóxico e a tia paterna tinha doença nodular tireoidiana sem disfunção), diferentemente do probando neste estudo.

TSH normal e T4 baixo estão presentes em 3 a 5% dos recém-nascidos, o que pode ocorrer por imaturidade hipotalâmica, durante doenças graves, por deficiência da globulina ligadora dos hormônios tireoidianos (TBG), no hipotireoidismo central ou no hipotireoidismo primário quando há retardo da elevação do TSH (1:100.000 recém-nascidos) (10). A possibilidade de retardo na elevação do TSH é relatada, e é particularmente comum em crianças nascidas com menos de 2.500 g de peso corporal (10,46). Em pacientes com baixo peso ao nascimento o TSH pode também apresentar elevações apenas discretas (10). Seguimento a longo prazo desses pacientes em geral não é descrito, o que contribui para que o quadro permaneça pouco esclarecido.

O probando tinha hipotireoidismo severo, com concentração sérica de T4 livre indetectável ao terceiro mês de vida, mas com concentração de TSH inapropriadamente normal para a severidade da deficiência de hormônio tireoidiano, o que sugere envolvimento do sistema nervoso central na fisiopatologia de sua doença. Uma curva dose-resposta de TSH com estímulo por TRH poderia ter avaliado essa possibilidade, mas à época do diagnóstico o paciente não era atendido por endocrinologistas e isso não foi feito. Mais tarde optou-se por não realizar o teste de estímulo com TRH principalmente por razões éticas, considerando-se o desconforto de múltiplas coletas de sangue em criança com déficit cognitivo e a

probabilidade praticamente nula de se obter qualquer esclarecimento diagnóstico adicional em paciente já com função tireoidiana normal – tais provas realizadas por alguns pesquisadores em pacientes com níveis de T4 livre normais à época do teste em geral resultaram normais (116,117).

O TSH sérico é o mais sensível marcador de hipotireoidismo tecidual, porém o ponto de corte para o diagnóstico do hipotireoidismo no teste de triagem neonatal vem sendo objeto de discussão (92-96). O diagnóstico de hipotireoidismo neonatal no probando pode ter sido perdido na primeira semana de vida por resultado falso negativo ao teste de triagem. Há serviços de triagem neonatal que adotam como ponto de corte para o valor de TSH 6,0 $\mu\text{U/ml}$ (92) ou até 5,2 $\mu\text{U/ml}$ (96), valor pelo qual o paciente-índice teria recebido o diagnóstico de hipotireoidismo congênito ao sétimo dia de vida e se beneficiaria do tratamento precoce e redução das possíveis sequelas.

Apesar da possível falha diagnóstica ao teste de triagem neonatal, por que o menino produziu concentração de TSH acima de 7 $\mu\text{U/ml}$ em sua primeira semana de vida e não mais tarde, quando a concentração de T4 era indetectável mas a concentração sérica de TSH permaneceu abaixo de 5 $\mu\text{U/ml}$, permanece sem explicação. Também é possível que ao nascimento os níveis hormonais tenham refletido um estado de eutireoidismo que mudou dramaticamente nos meses subsequentes, quando paciente pode ter apresentado hipotireoidismo severo com envolvimento do sistema nervoso central. A possibilidade de disgenesia tireoidiana, no entanto, não pode ser completamente afastada – as dimensões reduzidas da glândula tireoide do probando, documentadas pelo estudo ultrassonográfico realizado quando ele contava 4 anos de idade, podem corresponder ao diagnóstico de hipoplasia tireoidiana como resultado de disgenesia da glândula. Tireoide hipoplásica, detectável clinicamente como glândula de dimensões reduzidas, é relatada em 5% dos casos de hipotireoidismo neonatal (1), tratando-se de condição geneticamente heterogênea.

A concentração de TSH que constava dos registros médicos do tio materno do probando era elevada (12,97 $\mu\text{U/ml}$, normal para a idade pelo método então empregado < 7,0 $\mu\text{U/ml}$) e a concentração de T4 era baixa (5,3 $\mu\text{g/dl}$, intervalo normal de referência 6 – 16,5 $\mu\text{g/dl}$), quadro compatível com hipotireoidismo primário, porém para a concentração de T4 de que era portador se poderia esperar

concentração ainda mais elevada de TSH. Há muito demonstrou-se a possibilidade de discreta elevação do TSH em pacientes com hipotireoidismo central (118), porém em níveis bem inferiores aos encontrados nesse paciente. Mais tarde descreveram-se pacientes com hipotireoidismo central com excesso da subunidade β da molécula, ou seja, moléculas de TSH em concentração detectável, imunologicamente reativas, porém com atividade biológica reduzida (119). Essa é, portanto, uma remota possibilidade para explicar a natureza do hipotireoidismo desse paciente. Suas aferições hormonais, no entanto, foram realizadas à internação do paciente em hospital em razão de doença aguda, o que pode ter interferido nas concentrações hormonais.

A privação tecidual de hormônio tireoidiano, notadamente no sistema nervoso central, ainda que de curta duração, pode prejudicar o desenvolvimento normal e resultar em redução da capacidade cognitiva de maneira definitiva (11,120). O probando e seu tio materno tiveram diagnóstico de hipotireoidismo em idade considerada tardia para os padrões ideais de início do tratamento do hipotireoidismo congênito, o probando com nível extremamente baixo de T4, não se podendo, portanto, descartar que o prejuízo ao desenvolvimento psicomotor e cognitivo registrado em ambos os casos, ao menos em parte, tenha sido sequela de hipotireoidismo neonatal tardiamente tratado.

A natureza transitória da doença no probando deste estudo e em outros pacientes já relatados e seus familiares portadores de alterações cromossômicas, incluindo casos com alterações em grandes segmentos cromossômicos (75), reafirma que a síntese hormonal tireoidiana contém mecanismos redundantes na tentativa de garantir a suficiência hormonal. Pacientes com diagnóstico de hipotireoidismo congênito transitório mantêm-se com função tireoidiana normal sem reposição de tiroxina ao longo da vida, porém apresentam risco de recidiva da insuficiência hormonal com a senescência ou quando existe aumento da demanda por hormônios tireoidianos, devendo ter, portanto, a função tireoidiana reavaliada ao longo da vida (121).

A ocorrência familiar de hipotireoidismo congênito sindrômico justifica o estudo dos casos. Vem se tornando cada vez mais claro que o estudo das malformações congênitas adicionais em crianças com hipotireoidismo congênito tem importantes implicações para o entendimento da etiologia da doença (53). A avaliação clínica, genética e bioquímica pode ajudar na seleção de novos genes

candidatos (71). O resultado das análises genéticas pode não afetar diretamente o manejo clínico do caso-índice, mas é importante para o aconselhamento genético visando o risco de recorrência na família e pode sugerir a melhor opção de investigação e tratamento (54).

7 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo compõem a primeira descrição de paciente com hipotireoidismo congênito transitório associado a translocação não balanceada t(8;16). Essa descrição abre novas hipóteses na fisiopatologia do hipotireoidismo congênito transitório, contribui para a definição do fenótipo da translocação não balanceada t(8;16)(q24.3;q22) nunca descrita anteriormente e para o aconselhamento genético.

8 REFERÊNCIAS

- 1 De Felice M, Di Lauro R. Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev.* 2004;25(5):722-746.
- 2 Brown RS, Demmer LA. Editorial: the etiology of thyroid dysgenesis – still and enigma after all these years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(9):4069-4071.
- 3 Medda E, Olivieri A, Stazi MA, Grandolfo ME, Fazzini C, Baserga M, Burrioni M, Cacciari E, Calaciura F, Cassio A, Chiovato L, Costa P, Leonardi D, Martucci M, Moschini L, Pagliardini S, Parlato G, Pignero A, Pinchera A, Sala D, Sava L, Stoppioni V, Tancredi F, Valentini F, Vigneri R, Sorcini M. Risk factors for congenital hypothyroidism: results of a population case-control study (1997-2003). *Eur J Endocrinol.* 2002;153(6):765-773.
- 4 Coakley JC, Francis I, Gold H, Mathur K, Connelly JF. Transient primary hypothyroidism in the newborn: experience of the Victorian Neonatal Thyroid Screening Programme. *Aust Paediatr J.* 1989;25(1):25-30.
- 5 Vassart G, Dumont JE. Thyroid dysgenesis: multigenic or epigenetic... or both? *Endocrinology.* 2005;146(12):5035-5037.
- 6 Castanet M, Lyonnet S, Bonaïti-Pellié C, Polak M, Czernichow P, Léger J. Familial forms of thyroid dysgenesis among infants with congenital hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2000;343(6):441-2.
- 7 Kopp P. Perspective: genetic defects in the etiology of congenital hypothyroidism. *Endocrinology.* 2002;143(6):2019-2024.
- 8 Vono-Toniolo J, Kopp P. Thyroglobulin gene mutations and other genetic defects associated with congenital hypothyroidism. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004;48(1):70-82.
- 9 Calaciura F, Motta RM, Miscio G, Fichera G, Leonardi D, Carta A, Trischitta V, Tassi V, Sava L, Vigneri R. Subclinical hypothyroidism in early childhood: a frequent outcome of transient neonatal hyperthyrotropinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3209-3214.

- 10 American Academy of Pediatrics, American Thyroid Association. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics*. 2006;117(6):2290-2303.
- 11 Calaciura F, Mendorla G, Distefano M, Castorina S, Fazio T, Motta RM, Sava L, Delange F, Vigneri R. Childhood IQ measurements in infants with transient congenital hypothyroidism. *Clin Endocrinol*. 1995;43:473-477.
- 12 Castanet M, Polak M, Bonaïti-Pellié C, Lyonnet S, Czernichow P, Léger J; AFDPHE (Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant). Nineteen years of national screening for congenital hypothyroidism: familial cases with thyroid dysgenesis suggest the involvement of genetic factors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(5):2009-2014.
- 13 Oakley GA, Muir T, Ray M, Girdwood RW, Kennedy R, Donaldson MD. Increased incidence of congenital malformations in children with transient thyroid-stimulating hormone elevation on neonatal screening. *J Pediatr*. 1998; 132(4):726-30.
- 14 Kurinczuk JJ, Bower C, Lewis B, Byrne G. Congenital hypothyroidism in Western Australia 1981–1998. *J Paediatr Child Health*. 2002;38(2):187-191.
- 15 Olivieri A, Stazi MA, Mastroiacovo P, Fazzini C, Medda E, Spagnolo A, De Angelis S, Grandolfo ME, Taruscio D, Cordeddu V, Sorcini M; Study Group for Congenital Hypothyroidism. A population-based study on the frequency of additional congenital malformations in infants with congenital hypothyroidism: data from the Italian registry for congenital hypothyroidism (1991-1998). *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Feb;87(2):557-62.
- 16 Devos H, Rodd C, Gagné N, Laframboise R, Van Vliet G. A search for the possible molecular mechanisms of thyroid dysgenesis: sex ratios and associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(7):2502-2506.
- 17 Rastogi MV, Lafranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5(17).

- 18 Castanet M, Marinovic D, Polak M, Léger J. Epidemiology of thyroid dysgenesis: the familial component. *Horm Res Paediatr*. 2010;73(4):231-7.
- 19 Kaye CI; Committee on Genetics, Accurso F, La Franchi S, Lane PA, Hope N, Sonya P, G Bradley S, Michele A LP. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics*. 2006;118(3):1304-12.
- 20 Salanci BV, Kiratli PO, Günay EC. Role of scintigraphy in congenital thyroid anomalies. *Turk J Pediatr*. 2005;47(4):364-8.
- 21 Weber G, Vigone MC, Rapa A, Bona G, Chiumello G. Neonatal transient hypothyroidism: aetiological study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998;79(1):F70-F72.
- 22 LaFranchi SH. Approach to the diagnosis and treatment of neonatal hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Oct;96(10):2959-67.
- 23 Nair PS, Sobhakumar S, Kailas L. Diagnostic re-evaluation of children with congenital hypothyroidism. *Indian Pediatr*. 2010;47:757-60.
- 24 Kemper AR, Ouyang L, Grosse SD. Discontinuation of thyroid hormone treatment among children in the United States with congenital hypothyroidism: findings from health insurance claims data. *BMC Pediatrics*. 2010;10(9).
- 25 Parks JS, Lin M, Grosse SD, Hinton CF, Drummond-Borg M, Borgfeld L, Sullivan KM. The impact of transient Hypothyroidism on the increasing rate of congenital hypothyroidism in the United States. *Pediatrics*. 2010;125 Suppl 2:S54-63.
- 26 National Newborn Screening Information. Definitions for transient hypothyroidism. [Acesso em 2010 Nov 2].Disponível em <http://genes-r-us.uthscsa.edu/resources/newborn/00/ch4_complete.pdf>.
- 27 Shapira SK, Lloyd-Puryear MA, Boyle C. Future research diretions to identify causes of the increasing incidence rate of congenital hypothyroidism in the Unites States. *Pediatrics*. 2010;125(S2):S64-S68.
- 28 Jones JH, Mackenzie J, Croft GA, Beaton S, Young D, Donaldson MDC. Improvement in screening performance and diagnosis of congenital hypothyroidism in Scotland 1979 –2003. *Arch Dis Child*. 2006;91(8):680-685.

- 29 Dichtchekenian V. Hipotireoidismo neonatal transitório. In: SEMINÁRIO SOBRE HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO NO BRASIL, 2003, São Paulo. Anais... São Paulo: Instituto da Tireoide, 2004;95-99.
- 30 Evans C, Gregory JW, Barton J, Bidder C, Gibbs J, Pryce R, Al-Muzaffar I, Ludgate M, Warner J, John R, Moat SJ. Transient congenital hypothyroidism due to thyroid-stimulating hormone receptor blocking antibodies: a case series. *Ann Clin Biochem.* 2011;48(Pt 4):386-90.
- 31 Kurtoğlu S, Akin L, Akin MA, Çoban D. Iodine overload and severe hypothyroidism in two neonates. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2009;1(6):275-7.
- 32 Mengreli C, Maniati-Christidi M, Kanaka-Gantenbein C, Girginoudis P, Vagenakis AG, Dacou-Voutetakis C. Transient congenital hypothyroidism due to maternal autoimmune thyroid disease. *Hormones (Athens).* 2003;2(2):113-9.
- 33 Pacaud D, Huot C, Gattereau A, Brown RS, Glorieux J, Dussault JH, Van Vliet G. Outcome in three siblings with antibody-mediated transient congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 1995;127(2):275-277.
- 34 Moreno JC, Bikker H, Kempers MJE, van Trotsenburg AS, Baas F, de Vijlder JJ, Vulsma T, Ris-Stalpers C. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2002;347(2):95-102.
- 35 Brown RS, Bellisario RL, Botero D, Fournier L, Abrams CA, Cowger ML, David R, Fort P, Richman RA. Incidence of transient congenital hypothyroidism due to maternal thyrotropin receptor-blocking antibodies in over one million babies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Mar;81(3):1147-51.
- 36 Ares S, Escobar-Morreale HF, Quero J, Durán S, Presas MJ, Herruzo R, Morreale de Escobar G. Neonatal hypothyroxinemia: effects of iodine intake and preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(6):1704-1712.
- 37 Ares, S., Quero, J., Morreale de Escobar, G. Neonatal iodine deficiency: clinical aspects. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2005;18(S1):1257–1264.
- 38 Lomenick JP, Jackson WA, Backeljauw PF. Amiodarone-induced neonatal hypothyroidism: a unique form of transient early-onset hypothyroidism. *J Perinatol.* 2004;24(6):397-399.

- 39 Pavan-Senn CC, Nesi-França S, Pelaez J, Pereira RM, Boguszewski MC, Sandrini Neto R, Lacerda Filho L. Hipotireoidismo neonatal transitório causado pelo uso de amiodarona durante a gestação – relato de dois casos e revisão da literatura. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008 Feb;52(1):126-30.
- 40 Atwell TD, Lteif AN, Brown DL, McCann M, Townsend JE, Leroy AJ. Neonatal thyroid function after administration of IV iodinated contrast agent to 21 pregnant patients. *Am J Roentgenol.* 2008;191(1):268-271.
- 41 Linder N, Davidovitch N, Reichman B, Kuint J, Lubin D, Meyerovitch J, Sela BA, Dolfín Z, Sack J. Topical iodine-containing antiseptics and subclinical hypothyroidism in preterm infants. *J Pediatr.* 1997;131(3):434-439.
- 42 Trimarchi F, Gemelli M, Benvenga S, Genova R, De Luca F. Transient congenital hypothyroidism in an infant with congenital nephrosis of the Finnish type. *Acta Paediatr Scand.* 1983;72:145-147.
- 43 Huang SA, Tu HM, Harney JW, Venihaki M, Butte AJ, Kozakewich HP, Fishman SJ, Larsen PR. Severe hypothyroidism caused by type 3 iodothyronine deiodinase in infantile hemangiomas. *N Engl J Med.* 2000;343(3):185-189.
- 44 Benvenga S, Ordookhani A, Pearce EN, Tonacchera M, Azizi F, Braverman LE. Detection of circulating autoantibodies against thyroid hormones in an infant with permanent congenital hypothyroidism and her twin with transient congenital hypothyroidism: possible contribution of thyroid hormone autoantibodies to neonatal and infant hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2008 Oct;21(10):1011-20.
- 45 Van Wassenaer AG, Kok JH, de Vijlder JJM, Briët JM, Smit BJ, Tamminga P, Van Baar A, Dekker FW, Vulsma T. Effects of thyroxine supplementation on neurological development in infants born at less than 30 weeks' gestation. *N Engl J Med.* 1997;336(1):21-26.
- 46 Frank JE, Faix JE, Hermos RJ, Mullaney DM, Rojan DA, Mitchell ML, Klein RZ. Thyroid function in very low birth weight infants: effects on neonatal hypothyroidism screening. *J Pediatr.* 1996;128(4):548-554.

- 47 Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, Matsui K, Ota Y, Mimura Y, Mori A, Sato H, Takeuchi Y. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations on the dual oxidase (DUOX2) gene in Japanese patients detected by a neonatal screening program. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4261-4267.
- 48 Knobel. M, Nogueira CR, Medeiros-Neto G. Genética molecular do hipotireoidismo congênito. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2001;45(1):24-31.
- 49 Rubio IGS, Knobel M, Nascimento AC, Santos CL, Toniolo JV, Medeiros-Neto G. Hipotireoidismo congênito: recentes avanços em genética molecular. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002;46(4):391-401.
- 50 Bakker B, Bikker H, Vulsma T, de Randamie JS, Wiedijk BM, De Vijlder JJ. Two decades of screening for congenital hypothyroidism in The Netherlands: TPO gene mutations in total iodide organification defects (an update). *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Oct;85(10):3708-12.
- 51 Sunthornthepvarakui T, Gottschalk ME, Hayashi Y, Refetoff S. Brief report: resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med.* 1995;332(3):155-160.
- 52 Narumi S, Muroya K, Asakura Y, Adachi M, Hasegawa T. Transcription factor mutations and congenital hypothyroidism: systematic genetic screening of a population-based cohort of Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(4):1981-5.
- 53 Ramos HE. Disgenesias tireoidianas: estudo clínico e pesquisa molecular dos genes candidatos PAX8, receptor de TSH e NKX2.5 em pacientes com hipotireoidismo congênito. São Paulo, 2007. 106 p. Tese de doutorado em Ciências, Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.
- 54 Park SM, Chatterjee V K. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet.* 2005;42(5):379-389.
- 55 Trueba SS, Augé J, Mattei G, Etchevers H, Martinovic J, Czernichow P, Vekemans M, Polak M, Attié-Bitach T. PAX8, TITF1 AND FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(1):455-62.

- 56 Pohlenz J, Rosenthal IM, Weiss RE, Jhiang SM, Burant C, Refetoff S. Congenital hypothyroidism due to mutations in the sodium/iodide symporter. Identification of a nonsense mutation producing a downstream cryptic 3' splice site. *J Clin Invest* 1998;101(5):1028–1035.
- 57 Pohlenz J, Dumitrescu A, Zundel D, Martiné U, Schönberger W, Koo E, Weiss RE, Cohen RN, Kimura S, Refetoff S. Partial deficiency of thyroid transcription factor 1 produces predominantly neurological defects in humans and mice. *J Clin Invest* 2002;109(4):469-473.
- 58 Krude H, Schütz B, Biebermann H, von Moers A, Schnabel D, Neitzel H, Tönnies H, Weise D, Lafferty A, Schwarz S, DeFelice M, von Deimling A, van Landeghem F, DiLauro R, Grüters A. Choreoathetosis, hypothyroidism, and pulmonary alterations due to human NKX2-1 haploinsufficiency. *J Clin Invest*. 2002;109(4):475-80.
- 59 Ferrara AM, De Michele G, Salvatore E, Di Maio L, Zampella E, Capuano S, Del Prete G, Rossi G, Fenzi G, Filla A, Macchia PE. A novel NKX2.1 mutation in a family with hypothyroidism and benign hereditary chorea. *Thyroid* 2008;18(9):1005-1009.
- 60 Devriendt K, Vanhole C, Matthijs G, de Zegher F. Deletion of thyroid transcription factor-1 gene in an infant with neonatal thyroid dysfunction and respiratory failure. *N Engl J Med* 1998;338(18):1317-1318.
- 61 Vilain C, Rydlewski C, Duprez L, Heinrichs C, Abramowicz M, Malvaux P, Renneboog B, Parma J, Costagliola S, Vassart G. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(1):234-238.
- 62 Congdon T, Nguyen LQ, Nogueira CR, Habiby RL, Medeiros-Neto G, Kopp P. A novel mutation (Q40P) in PAX8 associated with congenital hypothyroidism and thyroid hypoplasia: evidence for phenotypic variability in mother and child. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(8):3962-7.
- 63 De Sanctis L, Corrias A, Romagnolo D, Di Palma T, Biava A, Borgarello G, Gianino P, Silvestro L, Zannini M, Dianzani I. Familial PAX8 small deletion (c.989_992delACCC) associated with extreme phenotype variability. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(11):5669-5674.

- 64 Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, Parma J, Roussie AL, Abramowicz M, Vilain C, Christophe D, Costagliola S, Vassart G. Characterization of a novel loss of function mutation of PAX8 in a familial case of congenital hypothyroidism with in-place, normal-sized thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(9):4285-4291.
- 65 Bamforth JS, Hughes IA, Lazarus JH, Weaver CM, Harper PS. Congenital hypothyroidism, spiky hair, and cleft palate. *J Med Genet* 1989;26(1):49-51.
- 66 Baris I, Arisoy AE, Smith A, Agostini M, Mitchell CS, Park SM, Halefoglu AM, Zengin E, Chatterjee VK, Battaloglu E. A novel missense mutation in human TTF-2 (FKHL15) gene associated with congenital hypothyroidism but not athyreosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):4183-4187.
- 67 Ohye H, Sugawara M. Dual oxidase, hydrogen peroxide and thyroid diseases. *Exp Biol Med (Maywood)* 2010;235(4):424-433.
- 68 Pachucki J, Wang D, Christophe D, Miot F. Structural and functional characterization of the two human ThOX/Duox genes and their 5'-flanking regions. *Mol Cell Endocrinol* 2004;214(1-2):53-62.
- 69 Dupuy C, Ohayon R, Valent A, Noël-Hudson MS, Dème D, Virion A. Purification of a novel flavoprotein involved in the thyroid NADPH oxidase. Cloning of the porcine and human cDNAs. *J Biol Chem* 1999;274(52):37265–37269.
- 70 De Deken X, Wang D, Many MC, Costagliola S, Libert F, Vassart G, Dumont JE, Miot F. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J Biol Chem* 2000;275(30):23227–23233.
- 71 Grasberger H, Refetoff S. Identification of the maturation factor for dual oxidase. Evolution of an eukaryotic operon equivalent. *J Biol Chem* 2006;281(27):18269-72.
- 72 De Deken X, Wang D, Dumont JE, Miot F. Characterization of ThOX proteins as components of the thyroid H₂O₂-generating system. *Exp Cell Res* 2002;273(2):187-96.
- 73 Hoste C, Rigutto S, Van Vliet G, Miot F, De Deken X. Compound heterozygosity for a novel hemizygous missense mutation and a partial deletion affecting the catalytic core of the H₂O₂-generating enzyme DUOX2 associated with transient congenital hypothyroidism. *Human Mutat* 2010;31(4):E1304-E1319.

- 74 Zamproni I, Grasberger H, Cortinovis F, Vigone MC, Chiumello G, Mora S, Onigata K, Fugazzola L, Refetoff S, Persani L, Weber G. Biallelic inactivation of the dual oxidase maturation factor 2 (DUOXA2) gene as a novel cause of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(2):605-610.
- 75 Huler I, Hermanns P, Nestoris C, Heger S, Refetoff S, Pohlenz J, Grasberger H. A single copy of the recently identified dual oxidase maturation factor (DUOXA) 1 gene produces only mild transient hypothyroidism in a patient with a novel biallelic DUOXA2 mutation and monoallelic DUOXA1 deletion. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(5):E841-5.
- 76 Niu DM, Lin C, Hwang B, Jap T, Liao C, Wu J. Contribution of genetic factors to neonatal transient hypothyroidism. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2005;90(1):F69-F72.
- 77 Perone D, Teixeira SS, Clara SA, Santos DC, Nogueira CR. Aspectos genéticos do hipotireoidismo congênito. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2004;48(1):62-69.
- 78 Goswami V, Dubey NK. Townes-Brocks syndrome with hypothyroidism. *Indian Pediatr* 2007;44(2):140-142.
- 79 Botzenhart EM, Green A, Ilyina H, König R, Lowry RB, Lo IF, Shohat M, Burke L, McGaughran J, Chafai R, Pierquin G, Michaelis RC, Whiteford ML, Simola KO, Rösler B, Kohlhase J. SALL1 mutation analysis in Townes-Brocks syndrome: twelve novel mutations and expansion of the phenotype. *Hum Mutat* 2005;26(3):282-290.
- 80 Eussen BH, Bartalini G, Bakker L, Balestri P, Di Lucca C, Van Hemel JO, Dauwerse H, van Den Ouweland AM, Ris-Stalpers C, Verhoef S, Halley DJ, Fois A. An unbalanced submicroscopic translocation t(8;16)(q24.3;p13.3)pat associated with tuberous sclerosis complex, adult polycystic kidney disease, and hypomelanosis of Ito. *J Med Genet* 2000;37(4):287-291.

- 81 Kino T, Pavlatou MG, Moraitis AG, Nemery RL, Raygada M, Stratakis CA., ZNF764 Haploinsufficiency May Explain Partial Glucocorticoid, Androgen, and Thyroid Hormone Resistance Associated with 16p11.2 Microdeletion. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(8). Epub 12/maio/2012.
- 82 Perry R, Heinrichs C, Bourdoux P, Khoury K, Szöts F, Dussault JH, Vassart G, Van Vliet G. Discordance of monozygotic twins for thyroid dysgenesis: implications for screening and for molecular pathophysiology. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 Sep;87(9):4072-7.
- 83 Young ID, Simpson K. Unknown syndrome: abnormal facies, congenital heart defects, hypothyroidism, and severe retardation. *J Med Genet* 1987 Nov;24(11):715-6.
- 84 Mussa A, Baldassarre G, Rosaia De Santis L, Gastaldi R, Corrias A, Silengo MC. Four new cases of PHACES syndrome: variable phenotypic expression and endocrine features. *Acta Paediatr* 2008 Dec;97(12):1729-33.
- 85 Thapa R, Bhattacharya A. Fraser Syndrome with partial anomalous pulmonary venous connection. *Indian Pediatr* 2008;45(6):510-511.
- 86 Larson C, Hermos R, Delaney A, Daley D, Mitchell M. Risk factors associated with delayed thyrotropin elevations in congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 2003;143(5):587-91.
- 87 Kempers MJ, Lanting CI, van Heijst AF, van Trotsenburg AS, Wiedijk BM, de Vijlder JJ, Vulsma T. Neonatal screening for congenital hypothyroidism based on thyroxine, thyrotropin and thyroxine-binding globulin measurement: potentials and pitfalls. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(9):3370-3376.
- 88 Simpser T, Rapaport R. Update on some aspects of neonatal thyroid disease. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2010;2(3):95-9.
- 89 Tylek-Lemańska D, Kumorowicz-Kopiec M, Starzyk J. Screening for congenital hypothyroidism: the value of retesting after four weeks in neonates with low and very low birth weight. *J Med Screen*. 2005;12(4):166-9.

- 90 Mengreli C, Kanaka-Gantenbein C, Girginoudis P, Magiakou MA, Christakopoulou I, Giannoulia-Karantana A, Chrousos GP, Dacou-Voutetakis C. Screening for congenital hypothyroidism: the significance of threshold limit in false-negative results. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4283-90.
- 91 Alemzadeh R, Friedman S, Fort P, Recker B, Lifshitz F. Is there compensated hypothyroidism in infancy? *Pediatrics* 1992;90(2):207-211.
- 92 Korada SM, Pearce M, Ward Platt MP, Avis E, Turner S, Wastell H, Cheetham T. Difficulties in selecting an appropriate neonatal thyroid stimulating hormone (TSH) screening threshold. *Arch Dis Child* 2010;95(3):169-73.
- 93 Korada M, Kibirige M, Turner S, Day J, Johnstone H, Cheetham T. Repeat testing for congenital hypothyroidism in preterm infants is unnecessary with an appropriate thyroid stimulating hormone threshold. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008;93(4):F286-8.
- 94 Corbetta C, Weber G, Cortinovis F, Calebiro D, Passoni A, Vigone MC, Beck-Peccoz P, Chiumello G, Persani L. A 7-year experience with low blood TSH cutoff levels for neonatal screening reveals an unsuspected frequency of congenital hypothyroidism (CH). *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Nov;71(5):739-45.
- 95 França SN, Domingos MT. Triagem neonatal do hipotireoidismo congênito: novas conquistas... novos desafios... *Arq. Bras Endocrinol Metab* 2008;52(4):579-580.
- 96 Ramalho AR, Ramalho RJ, Oliveira CR, Santos EG, Oliveira MC, Aguiar-Oliveira MH. Programa de triagem neonatal para hipotireoidismo congênito no nordeste do Brasil: critérios diagnósticos e resultados. *Arq. Bras Endocrinol Metab* 2008;52(4):617-627.
- 97 Daliva AL, Linder B, DiMartino-Nardi J, Saenger P. Three-year follow up of borderline congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 2000;136(1):53-6.
- 98 Silva LO, Dias VM, Silva IN, Chagas AJ. Hipotireoidismo congênito transitório: perfil das crianças identificadas no programa estadual de triagem neonatal de Minas Gerais, Brasil. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005;49(4):521-8.

- 99 Medeiros-Neto G. Uma visão histórica do rastreamento neonatal do hipotireoidismo congênito no Brasil. In: SEMINÁRIO SOBRE HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO NO BRASIL, 2003, São Paulo. Anais... São Paulo: Instituto da Tireoide, 2004. P. 5-13.
- 100 BRASIL. Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. Lei n.º 8.069 de 13 de julho de 1990. Estatuto da Criança e do Adolescente. Disponível em <<http://www.planalto.gov.br/ccivil/Leis/L8069.htm>> Acesso em 17 abr. 2007.
- 101 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS n.º 822/GM em 06 de junho de 2001. Criação do Programa Nacional de Triagem Neonatal. Disponível em <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2001/GM/GM-822.htm>> Acesso em 17 abr. 2007.
- 102 Carvalho TM. Programa Nacional de Triagem Neonatal: um novo enfoque como programa de saúde pública. In: SEMINÁRIO SOBRE HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO NO BRASIL, 2003, São Paulo. Anais... São Paulo: Instituto da Tireoide, 2004. P. 15-21.
- 103 IPED-APAE. Histórico do Instituto de Pesquisas e Diagnósticos da APAE Campo Grande (MS) e da triagem neonatal em Mato Grosso do Sul. Disponível em <http://www.ipdapae.org.br/site/_fontes/visualizarItem.php?perfil=7&itemId=95> Acesso em 16 abr. 2007.
- 104 BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Assistência à Saúde. Portaria n.º 856 de 12 de novembro de 2002. Habilitação da APAE de Campo Grande (MS) na Fase II de Implantação do Programa Nacional de Triagem Neonatal. Disponível em <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/PORT2002/PT-856.htm>> Acesso em 16 abr. 2007.
- 105 Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613-616.
- 106 Shaffer LG, Tommerup N. ISCN (2009): International System of Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: Karger, 2009.

107 Wasniewska M, De Luca F, Cassio A, Oggiaro N, Gianino P, Delvecchio M, Aiazzi R, Stoppioni V, Lombardo F, Messina MF, Valenzise M, Arrigo T. In congenital hypothyroidism bone maturation at birth may be a predictive factor of psychomotor development during the first Year of life irrespective of other variables related to treatment. *Eur J Endocrinol* 2003;149(1):1-6.

108 International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders. Reference values for thyroid volume by ultrasound in iodine-sufficient schoolchildren. Disponível em <<http://www.iccidd.org/pages/technical-resources/assessing-iodine-status/thyroid-volume-reference.php>>. Acesso em 10 mar 2012.

109 Pezzuti IL, Lima PP, Dias VM. Congenital hypothyroidism: the clinical profile of affected newborns identified by the Newborn Screening Program of the State of Minas Gerais, Brazil. *J Pediatr (Rio J)* 2009;85(1):72-9.

110 Maher ER, Willatt L, Cuthbert G, Chapman C, Hodgson SV. Three cases of 16q duplication. *J Med Genet* 1991;28(11):801-802.

111 Calva P, Frias S, Carnevale A, Reyes P. Partial trisomy 16q resulting from maternal translocation 11p/16q. *Ann Genet* 1984;27(2):122-5.

112 Houlston RS, Renshaw RM, James RS, Ironton R, Temple IK: Duplication of 16q22-qter confirmed by fluorescent in situ hybridization and molecular analysis. *J Med Genet* 1994, 31(11):884–887.

113 U.S. National Library of Medicine. Genetics Home Reference. Disponível em <<http://ghr.nlm.nih.gov/gene=recql4>>. Acesso em 11 abr. 2010.

114 U.S. National Library of Medicine. Genetics Home Reference. Disponível em <<http://ghr.nlm.nih.gov/gene=ndrg1>>. Acesso em 11 abr. 2010.

115 Lorenz P, Dietmann S, Wilhelm T, Koczan D, Autran S, Gad S, Wen G, Ding G, Li Y, Rousseau-Merck MF, Thiesen HJ. The ancient mammalian KRAB zinc finger gene cluster on human chromosome 8q24.3 illustrates principles of C2H2 zinc finger evolution associated with unique expression profiles in human tissues. *BMC Genomics*. 2010;11:206.

116 Van Tijn DA, de Vijlder JJ, Vulsma T. Role of the thyrotropin-releasing hormone stimulation test in diagnosis of congenital central hypothyroidism in infants. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(2):410-9.

117 Van Tijn DA, de Vijlder JJ, Verbeeten B Jr, Verkerk PH, Vulsma T. Neonatal detection of congenital hypothyroidism of central origin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3350-9.

118 Patel YC, Burger HG. Serum thyrotropin (TSH) in pituitary and-or hypothalamic hypothyroidism: normal or elevated basal levels and paradoxical responses to thyrotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973;37(2):190-6.

119 Faglia G, Beck-Peccoz P, Ballabio M, Nava C. Excess of beta-subunit of thyrotropin (TSH) in patients with idiopathic central hypothyroidism due to the secretion of TSH with reduced biological activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;56(5):908-14.

120 Delahunty C, Falconer S, Hume R, Jackson L, Midgley P, Mirfield M, Ogston S, Perra O, Simpson J, Watson J, Willatts P, Williams F; Scottish Preterm Thyroid Group. Levels of neonatal thyroid hormone in preterm infants and neurodevelopmental outcome at 5 1/2 years: millennium cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(11):4898-908.

121 Leonardi D, Polizzotti N, Carta A, Gelsomino R, Sava L, Vigneri R, Calaciura F. Longitudinal study of thyroid function in children with mild hyperthyrotropinemia at neonatal screening for congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(7):2679-85.

ANEXO I



Centro Universitário da Grande Dourados



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
COM SERES HUMANOS UNIGRAN**

Dourados 19 de Janeiro de 2008.

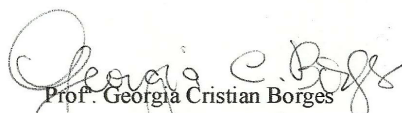
Prezada Pesquisadora:

Luciana Antunes de Almeida Secchi

O Projeto de vossa autoria **218/07** intitulado **“Hipotireoidismo Neonatal e Anormalidades Congênitas Extra-Tireoidianas Associados a Translocação Genética 8q+”** foi integralmente APROVADO pelo CEP-UNIGRAN e poderá ser conduzido.

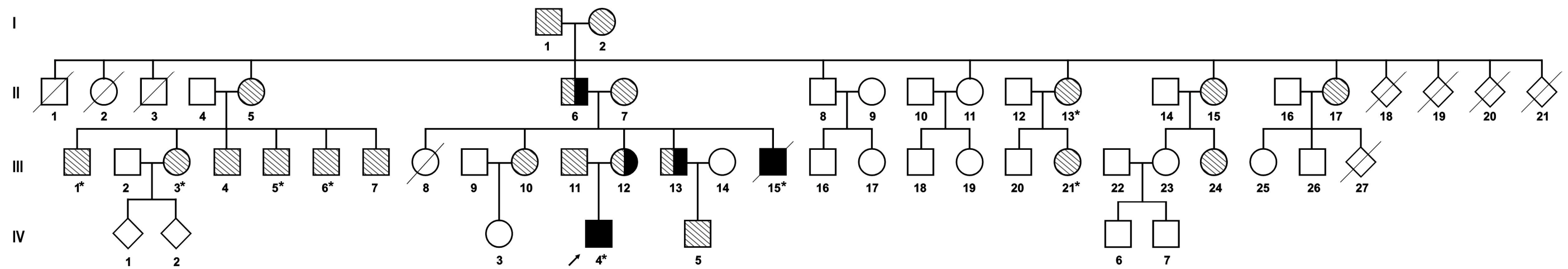
Ressalto que os relatórios semestrais devem ser apresentados ao Comitê para acompanhamento e que alterações em seu projeto devem ser avisadas previamente a coordenação.

Respeitosamente,


Prof. Georgia Cristian Borges
Secretária CEP-UNIGRAN

ANEXO II

HEREDOGRAMA COMPLETO DA FAMÍLIA ESTUDADA



Símbolos hachurados representam os membros da família que tiveram o cariótipo estudado. Probando indicado pela seta. Símbolos preenchidos em preto representam os indivíduos portadores do quadro clínico com síndrome dismórfica e retardo mental associada a hipotireoidismo. Símbolos semi-preenchidos em preto representam indivíduos portadores de translocação balanceada t(8;16). Indivíduos marcados com * são portadores de retardo mental.

ANEXO III**ARTIGO SUBMETIDO A PUBLICAÇÃO****Transient neonatal hypothyroidism in a boy with unbalanced translocation t(8;16)****Hipotireoidismo neonatal em um menino com translocação não-balanceada t(8;16)**

Luciana A. de A. Secchi¹, Juliana F. Mazzeu², Mara Santos Córdoba³, Íris Ferrari², Helton Estrela Ramos⁴ and Francisco de Assis Rocha Neves¹

1 Molecular Pharmacology Laboratory, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, Brasília (DF), Brazil

2 Department of Genetics and Morphology, Institute of Biological Sciences, University of Brasília, Brasília (DF), Brazil

3 University Hospital, University of Brasília, Brasília (DF), Brazil

4 Department of Bioregulation, Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador (BA), Brazil, and Research Center Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador (BA), Brazil.

Corresponding author: Luciana A. de A. Secchi

Rua Áustria, 165 – Jardim Europa

Zip code: 79826-555 Dourados – MS, Brazil

E-mail address: lusecchi@terra.com.br

Telephone number: 55 67 9236 0255 Fax number: 55 67 3421 0022

Abbreviated title: Transient neonatal hypothyroidism and t(8;16)

Key words: transient congenital hypothyroidism, unbalanced translocation t(8;16), extrathyroid malformations, t(8;16) phenotype

Word count: 1920

Figure count: 3

Article type: case report

SUMMARY

Genetic defects resulting in deficiency of thyroid hormone synthesis can be found in about 10% of the patients with permanent congenital hypothyroidism, but the identification of genetic abnormalities in association with the transient form of the disease is extremely rare.

We report the case of a boy with transient neonatal hypothyroidism undiagnosed through neonatal screening associated with extrathyroid malformations and mental retardation who carries an unbalanced translocation $t(8;16)$ and whose maternal uncle had a similar phenotype. Chromosomal analysis defined the patient's karyotype as $46,XY,der(8)t(8;16)(q24.3;q22)mat,16qh+$. Array-CGH with patient's DNA revealed a ~80 kb terminal deletion on chromosome 8q24.3qter and a ~21 Mb duplication on chromosome 16q22qter. *ZNF252* gene, mapped to the deleted region on patient's chromosome 8, is highly expressed in the thyroid and may be a candidate gene for our patient's transient neonatal thyroid dysfunction. This is the first report on the association of a chromosomal translocation with the transient form of congenital hypothyroidism. This description opens new hypothesis for the physiopathology of transient congenital hypothyroidism, and can also contribute to the definition of the phenotype of the unbalanced translocation $t(8;16)(q24.3;q22)$ that has never been described before.

SUMÁRIO

Defeitos genéticos resultando em deficiência hormonal tireoidiana podem ser encontrados em cerca de 10% dos pacientes com hipotireoidismo congênito permanente, porém a identificação de anormalidades genéticas associadas à forma transitória da doença é extremamente rara. Relatamos o caso de um menino com hipotireoidismo neonatal transitório não diagnosticado ao teste de triagem neonatal associado a malformações extra-tireoidianas e retardo mental, portador de translocação não-balanceada $t(8;16)$. Seu tio materno tinha fenótipo similar. Análise cromossômica definiu o cariótipo do paciente como $46,XY,der(8)t(8;16)(q24.3;q22)mat,16qh+$. *Array-CGH* com o DNA do paciente revelou deleção terminal de ~80 kb no cromossomo 8q24.3qter e duplicação de ~21 Mb no cromossomo 16q22qter. O gene *ZNF252*, mapeado na região da deleção no cromossomo 8 do paciente, é altamente expresso na tireóide e pode ser um gene candidato no hipotireoidismo neonatal transitório do paciente. Este é o primeiro relato de associação de uma translocação cromossômica com a forma transitória do hipotireoidismo congênito. Esta descrição descortina novas hipóteses para a fisiopatologia do hipotireoidismo congênito transitório e também pode contribuir para a definição do fenótipo da translocação não-balanceada $t(8;16)(q24.3;q22)$, nunca descrito anteriormente.

INTRODUCTION

Congenital thyroid insufficiency (neonatal or congenital hypothyroidism), a deficiency of thyroid hormone at birth (1), is the most common congenital endocrine abnormality (2). In the majority of patients the condition is permanent and only in a minority of them it is transient (3,4,5). In its transient form, the deficiency is temporary and patients do not need levothyroxine lifelong reposition since recovery to euthyroidism occurs in the first few months or years of life (1). Since normal thyroid function is essential for the development, growth and metabolic homeostasis, transient hypothyroidism, if non-diagnosed or when treatment is inadequate, can result in intelligence deficit (6).

Transient congenital hypothyroidism can be caused by genetic or non-genetic factors, such as immunologic, environmental or iatrogenic, maternal or neonatal factors (1,7,8). In the last decade, genetic abnormalities have been identified in some patients, most of them in genes coding proteins involved in the thyroid generation of hydrogen peroxide (H_2O_2) – thyro-oxidase or dual-oxidase 2 (DUOX2) and dual-oxidase maturation factors (DUOXA1 and DUOXA2) (9,10,11,12,13).

Description of patients with congenital hypothyroidism and genetic analysis can bring important information about the etiology and physiopathology of thyroid diseases, especially in those with additional phenotypic abnormalities and/or in familial cases. We report the case of a boy with transient congenital hypothyroidism associated with extra-thyroid malformations and mental retardation who carries an unbalanced translocation t(8;16) and whose maternal uncle had a similar phenotype.

CASE REPORT

A boy born after an uneventful full term pregnancy, from non-consanguineous parents, weighting 2250 g (< 3rd centile), was noticed to have ocular hypertelorism, deviated nasal septum, choanal atresia, umbilical hernia, hypospadias, imperforate anus and bradycardia. In the first day of life he was submitted to surgical treatment for choanal and anal abnormalities. On 7th day neonatal screening test for congenital hypothyroidism was negative, with TSH 7.09 μ U/ml (cut-off level of TSH used in the screening test was 20 μ U/ml) and total T4 16.4 μ g/dl (reference range

4.5-22.20 µg/dl). New thyroid function tests were carried out when the boy was 3 months old because of the clinical suspicion raised due to his presenting dry skin, umbilical hernia and developmental delay. These tests showed severe thyroid hormone deficiency (serum free T4 undetectable; serum TSH 4.97 µU/ml, reference range 0.49-4.67 µU/ml). Levothyroxine reposition was initiated (10.1 µg/kg daily) and six weeks later thyroid function parameters were normal (serum TSH 0.79 µU/ml, serum free T4 1.18 g/dl, reference range 0.7-1.9).

At the chronological age of seven months his bone age was compatible with that of a one-month-old baby. At the age of nine months the patient was referred to an endocrinologist for further investigation. Karyotype was performed and disclosed a chromosome unbalanced translocation (see below). Computed tomography of the central nervous system and echocardiography were normal.

Between 1 and 4 years old patient had irregular medical evaluations. Nevertheless, all thyroid function tests performed during that period, on levothyroxine replacement, were normal. When the boy reached the age of four, thyroid hormone replacement therapy was discontinued. Thyroid ultrasound study one month later showed normal thyroid morphology, small sized gland (0.75 cm³). Thyroid scintigraphy confirmed toxic thyroid, reduced in volume, with preserved morphology. Thyroglobulin serum concentration was normal (17.4 ng/ml, reference range 2.0-60.0 ng/ml) and thyroid auto-antibodies were not detected. Since then patient remains euthyroid and growing steadily.

The patient had impaired-walking due to muscle hypertonia and deficit of motor coordination, and also had language disorder, but intensive physiotherapy treatment and speech therapy since his first years of life have significantly improved his condition. He is able to write his name and read simple words and has achieved functional independence in self care. Besides, he has undergone surgeries for treatment of hypoplasia and deviated nasal septum. The boy, now aged 12, shows first signs of puberty.

Genetic analysis

Chromosomal analysis after G-banding (550 band resolution) of peripheral blood lymphocytes

The proband's karyotype disclosed a derivative chromosome 8 der(8) resulting from a translocation t(8;16) with breakpoints in 8q24.3 and 16q22 inherited from his mother, who carries a balanced reciprocal translocation (figures 1 and 2). One chromosome 16 presents with a large heterochromatin which represents a polymorphism without clinical significance (16qh+). The proband's karyotype (ISCN 2009) was then defined as 46,XY,der(8)t(8;16)(q24.3;q22)mat,16qh+.

We also analyzed the chromosomes of other 20 out of 37 family members spanning four generations and a balanced translocation was found in other three phenotypically normal family members (the patient's mother, one maternal uncle and the maternal grandfather) (figure 3). All of them carry a balanced translocation t(8;16), are asymptomatic and no thyroid dysfunctions or autoimmune thyroid diseases were detected. The patient's mother and her brother inherited the balanced translocation from their father, whose parents are still alive and have normal karyotypes. Mental retardation is present in six other family members who do not have any chromosome abnormalities and reported other causes for their deficits.

Array-CGH

For further mapping of the rearrangement, copy number variations of DNA segments (CNV) were investigated in the patient using the Human Genome Comparative Genomic Hybridization (CGH) microarray 60K (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). The statistical algorithm ADM-2 was used with a 6.7 sensitivity threshold, and the minimum number of consecutive aberrant probes was set at three to call an abnormality. The average size for CNV detection was 300 Kb.

Array-CGH with proband's DNA revealed a ~80 kb terminal deletion on chromosome 8q24.3qter (chr8: 146164694-146245835 Build 36/Hg18) and a ~21 Mb duplication on chromosome 16q22qter (chr16: 67957802-88893296 Build 36/Hg18). The genome browsers UCSC (<http://genome.ucsc.edu>) and Ensembl (<http://www.ensembl.org>) were used to assess the known genes mapped to the involved segments. The deletion on chromosome 8 includes only two known genes,

ZNF252 and *C8ORF77*, and a putative pseudo_gene, all with unknown function. The duplication on chromosome 16 extend from band q22.1qter and includes approximately 283 genes (NCBI build 36.3 September 15th 2011). No genes mapped to this segment have previously been related to hypothyroidism.

Patient's maternal uncle

We accessed the medical records of the patient's maternal uncle, a boy born full term in pelvipodalic presentation, small for gestational age (1900 g; < 3rd centile). He had neonatal jaundice which persisted for one week. At the time when he was born (22 years ago) neonatal screening test for congenital hypothyroidism was not performed in the Brazilian state where the birth occurred. At the age of four months he was diagnosed with severe hypothyroidism and levothyroxine reposition treatment was initiated. At eight months of age he was admitted to the hospital because of tracheobronchitis. Body weight was 4780 g (3 Kg below -2 standard deviations for age and sex) and height was 64 cm (-2 standard deviations for age and sex). In addition, anterior fontanel was wide (5 X 3.5 cm), he had oblique palpebral fissures, ocular hypertelorism, ogival palate, micrognathia, microstomia and retractile testes. He also presented hypoactivity and psychomotor delay, not being able to sit or take objects. Despite receiving levothyroxine therapy (9.15 mcg/kg daily), patient was still hypothyroid (TSH 12.97 μ U/ml - normal range for the method then used < 7.0 μ U/ml; T4 5.3 μ g/dl - reference range 6-16.5 μ g/dl). Thyroid hormone replacement therapy dose was adjusted, tracheobronchitis was treated and the patient was discharged from the hospital. He died two months later (at the age of ten months). No further information was found and the patient's karyotype had not been studied.

DISCUSSION

One of the remaining challenges in thyroid diseases physiopathology is etiologic diagnosis of congenital hypothyroidism. Genetic causes of congenital hypothyroidism are rarely identified (2).

Our patient had transient hypothyroidism associated with congenital malformations, mental retardation and an unbalanced translocation inherited from his mother. His

maternal uncle had important phenotypic similarities with him, suggesting a similar chromosome abnormality inherited from his father. From all the 23 studied family members, the proband and his deceased maternal uncle were the only ones who had hypothyroidism. The family members with balanced translocation t(8;16) are asymptomatic and euthyroid.

Oakley et al. documented much higher prevalence of extrathyroid malformations in patients with transient (14,8%) than in those with permanent congenital hypothyroidism (5,4%). Nevertheless, of their 344 patients, a chromosomal imbalance – t(14;15) – was diagnosed in only one patient with permanent congenital hypothyroidism, even though it was not clear in how many patients chromosomal analysis was carried out (14).

Interestingly, some of the extrathyroid malformations found in our patient such as hypospadias (15,16), choanal atresia and anal stenosis (17) have already been described in association with terminal duplications of chromosome 16, overlapping with the region duplicated in the proband. However, none of those patients presented hypothyroidism.

A complex clinical syndrome involving permanent hypothyroidism, tuberous sclerosis, sclerosis complex, adult polycystic kidney disease and hypomelanosis of Ito has been associated to an unbalanced translocation t(8;16)(q24.3;p13.3)pat. However, differently of our patient, patient's relatives had already diagnosed thyroid diseases (18). Our case report is, to the best of our knowledge, the first to describe a patient with transient congenital hypothyroidism and t(8;16).

Genetic mutations/partial deletion in patients with transient congenital hypothyroidism were described in genes coding DUOX2 and/or DUOXA1 and DUOXA2 (9,10,11,12,13) . In spite of that, none of the genes already known to be involved in the thyroid hormone synthesis have been mapped to the deleted segment on chromosome 8 or to the duplicated segment on chromosome 16. Even the thyroglobulin gene (*TG*), mapped to the long arm of chromosome 8, is out of deleted region (~12 Mb from breakpoint).

Patient's thyroid dysfunction seems to be related to his unbalanced translocation t(8;16), since a balanced translocation observed in his relatives is not associated with thyroid hormone dysfunction. Considering the size of the chromosome 16

duplicated segment it is possible that the partial trisomy 16q is involved in the patient's phenotype, especially in the extra-thyroid abnormalities.

Notwithstanding, we cannot exclude that the partial deletion of the chromosome 8 can participate on the physiopathology of the transient hypothyroidism observed in our patient, mainly because of *ZNF252* gene, which belongs to the zinc finger genes, one of the largest transcriptional gene regulation family. Although its function is still unknown, *ZNF252* is highly expressed in the thyroid, what may suggest a prominent role of the gene in that tissue (19). Consequently, haploinsufficiency of *ZNF252* may be involved in our patient's transient neonatal thyroid dysfunction. Nonetheless, new studies reporting the association of mutations in this gene with congenital hypothyroidism and knockout animals should address the role of *ZNF252* in thyroid dysgenesis or dysormonogenesis.

Our patient had transient severe hypothyroidism with serum T4 undetectable in the third month of life but with inappropriately normal serum TSH for the severity of thyroid hormone deprivation, what suggests central nervous system involvement. At the time of diagnosis the patient was not assisted by endocrinologists and a dose-response curve with TRH stimulus had not been performed. Considering that when we started to study the patient he was euthyroid without levothyroxine reposition and because of ethical concerns we decided not to carry out the TRH test.

Regardless possible misdiagnosis of neonatal hypothyroidism at patient's first week of life, why he had TSH levels over 7 $\mu\text{U/ml}$ on the 7th day and not later, when T4 level was undetectable but the serum TSH concentration remained under 5 $\mu\text{U/ml}$, remains unexplained. It is also possible that initial thyroid hormone levels would have reflected an euthyroid state that dramatically changed later, when he presented hypothyroidism with features of central involvement.

We believe that this description opens new hypothesis for the physiopathology of transient congenital hypothyroidism and can also contribute to the definition of the phenotype of the unbalanced translocation $t(8;16)(q24.3;q22)$ that has never been described before and to genetic counseling.

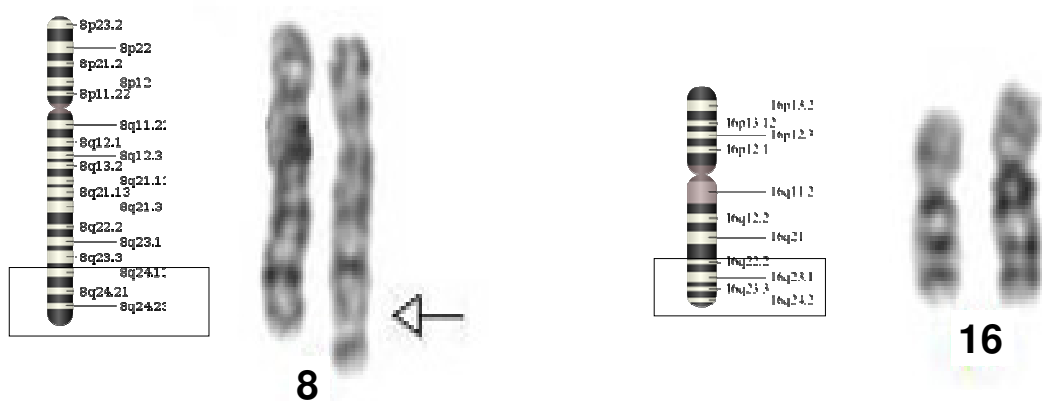


Figure 1. Translocated chromosomes 8 and 16 from the patient's karyotype.

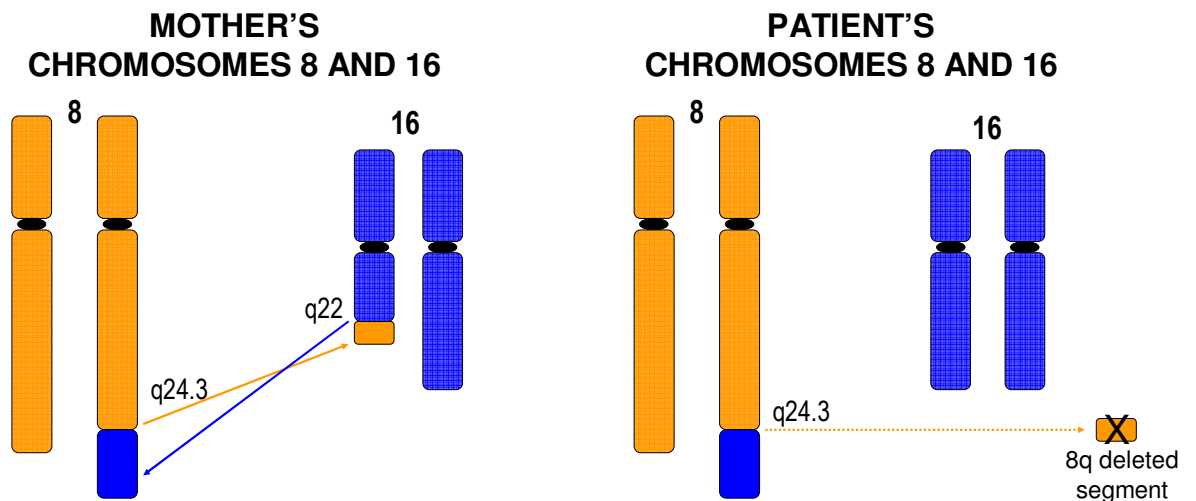


Figure 2. Schematic representation of patient's mother's (balanced) and patient's (unbalanced) translocation $t(8;16)$. Balanced translocation: there had been transference from genetic material from chromosome 8 long arm (8q24.3qter) to chromosome 16 long arm (16q) and from 16q (16q22qter) to 8q. Unbalanced translocation: the patient has inherited normal chromosomes from his father, an abnormal chromosome 8 from the mother and one normal chromosome 16 from the mother, which resulted in terminal deletion in one chromosome 8 and partial trisomy of chromosome 16.

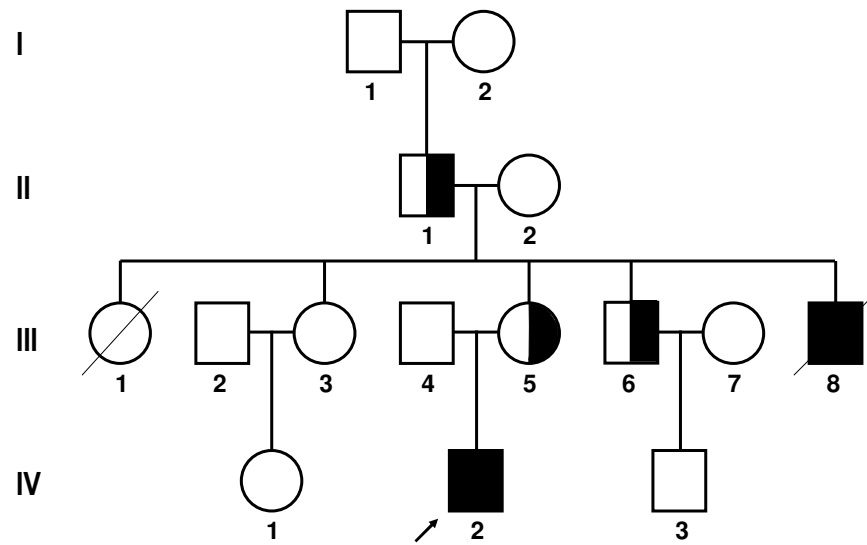


Figure 3. Family pedigree. Individuals half-shadowed have a balanced translocation $t(8;16)$. Individuals in black have an abnormal phenotype including hypothyroidism. Chromosome analysis was performed on individuals I1, I2, II1, II2, III3, III4, III5, III6, IV2 and IV3, as well as in 12 other family members not shown on the pedigree.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the family for participating in the study, Prof. Carla Rosenberg from Genetic and Evolutionary Biology Department, Biosciences Institute, São Paulo University, Brazil, for carrying out array CGH analysis, Prof. Angélica Amorim Amato from Molecular Pharmacology Laboratory, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, Brazil, for technical assistance and Prof. Margaret da Silva Boguszewski from Federal University of Paraná, Brazil, for critical revision of the manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent

Studies were approved by the Research Ethics Committee of UNIGRAN - Centro Universitário da Grande Dourados, Brazil, and written informed consents for publication of this case report and any accompanying images were obtained from proband's parents and from all other individuals (from those parents when they were underaged) who had the karyotype studied. A copy of the written consents for the studies and publication is available for review by the editors of this journal.

REFERENCES

1. Rastogi MV, Lafranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:17.
2. Kopp P. Perspective: genetic defects in the etiology of congenital hypothyroidism. *Endocrinology.* 2002;143:2019-2024.
3. Brown RS, Demmer LA. Editorial: the etiology of thyroid dysgenesis – still and enigma after all these years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4069-4071.
4. Medda E, Olivieri A, Stazi MA, Grandolfo ME, Fazzini C, Baserga M, Burrioni M, Cacciari E, Calaciura F, Cassio A, Chiovato L, Costa P, Leonardi D, Martucci M, Moschini L, Pagliardini S, Parlato G, Pignero A, Pinchera A, Sala D, Sava L, Stoppioni V, Tancredi F, Valentini F, Vigneri R, Sorcini M. Risk factors for congenital hypothyroidism: results of a population case-control study (1997-2003). *Eur J Endocrinol.* 2002;153:765-773.
5. Coakley JC, Francis I, Gold H, Mathur K, Connelly JF. Transient primary hypothyroidism in the newborn: experience of the Victorian Neonatal Thyroid Screening Programme. *Aust Paediatr J.* 1989;25:25-30.
6. Calaciura F, Motta RM, Miscio G, Fichera G, Leonardi D, Carta A, Trischitta V, Tassi V, Sava L, Vigneri R. Subclinical hypothyroidism in early childhood: a frequent outcome of transient neonatal hyperthyrotropinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3209-3214.
7. American Academy of Pediatrics, American Thyroid Association. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics.* 2006;117:2290-2303.
8. Weber G, Vigone MC, Rapa A, Bona G, Chiumello G. Neonatal transient hypothyroidism: aetiological study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1998;79:F70-F72.
9. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJE, van Trotsenburg AS, Baas F, de Vijlder JJ, Vulsma T, Ris-Stalpers C. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2002;347:95-102.

10. Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, Matsui K, Ota Y, Mimura Y, Mori A, Sato H, Takeuchi Y. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations on the dual oxidase (DUOX2) gene in Japanese patients detected by a neonatal screening program. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:4261-4267.
11. Zamproni I, Grasberger H, Cortinovis F, Vigone MC, Chiumello G, Mora S, Onigata K, Fugazzola L, Refetoff S, Persani L, Weber G. Biallelic inactivation of the dual oxidase maturation factor 2 (DUOXA2) gene as a novel cause of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:605-610.
12. Hoste C, Riguto S, Van Vliet G, Miot F, De Deken X. Compound heterozygosity for a novel hemizygous missense mutation and a partial deletion affecting the catalytic core of the H₂O₂-generating enzyme *DUOX2* associated with transient congenital hypothyroidism. *Human Mutat.* 2010;31:E1304-E1319.
13. Huler I, Hermanns P, Nestoris C, Heger S, Refetoff S, Pohlenz J, Grasberger H. A single copy of the recently identified dual oxidase maturation factor (DUOXA) 1 gene produces only mild transient hypothyroidism in a patient with a novel biallelic DUOXA2 mutation and monoallelic DUOXA1 deletion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E841-5.
14. Oakley GA, Muir T, Ray M, Girdwood RW, Kennedy R, Donaldson MD. Increased incidence of congenital malformations in children with transient thyroid-stimulating hormone elevation on neonatal screening. *J Pediatr.* 1998;132:726-30.
15. Maher ER, Willatt L, Cuthbert G, Chapman C, Hodgson SV. Three cases of 16q duplication. *J Med Genet.* 1991;28:801-802.
16. Calva P, Frias S, Carnevale A, Reyes P. Partial trisomy 16q resulting from maternal translocation 11p/16q. *Ann Genet.* 1984;7:122-5.
17. Houlston RS, Renshaw RM, James RS, Ironton R, Temple IK. Duplication of 16q22-qter confirmed by fluorescent *in situ* hybridization and molecular analysis. *J Med Genet.* 1994;31:884-887.

18. Eussen BHJ, Bartalini G, Bakker L, Balestri P, Di Lucca C, Van Hemel JO, Dauwerse H, Van den Ouweland AMW, Ris-Stalpers C, Verhoef S, Halley DJJ, Fois A. An unbalanced submicroscopic translocation t(8;16)(q24.3;p13.3)pat associated with tuberous sclerosis complex, adult polycystic kidney disease, and hypomelanosis of Ito. *J Med Genet.* 2000;37:287-291.
19. Lorenz P, Dietmann S, Wilhelm T, Koczan D, Autran S, Gad S, Wen G, Ding G, Li Y, Rousseau-Merck MF, Thiesen HJ. The ancient mammalian KRAB zinc finger gene cluster on human chromosome 8q24.3 illustrates principles of C2H2 zinc finger evolution associated with unique expression profiles in human tissues. *BMC Genomics.* 2010;11:206.