



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Igor de Carvalho Deprá

**Síndrome de Resistência ao Hormônio Tireoidiano: Mecanismos e
Manifestações Clínicas**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Célia Regina Nogueira

Coorientadora: Dra. Maria Cristina Crês

Botucatu

2024

Igor de Carvalho Deprá

Síndrome de Resistência ao Hormônio Tireoidiano:
Mecanismos e Manifestações Clínicas

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Célia Regina Nogueira

Coorientadora: Dra. Maria Cristina Crês

Botucatu

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Deprá, Igor de Carvalho.

Síndrome de resistência ao hormônio tireoidiano :
mecanismos, manifestações clínicas e implicações
terapêuticas / Igor de Carvalho Deprá. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientador: Célia Regina Nogueira

Coorientador: Maria Cristina Crês

Capes: 40101061

1. Glândula tireóide. 2. Hormônios tireóideos. 3.
Receptores beta dos hormônios tireóideos. 4. Genética. 5.
Genes.

Palavras-chave: Síndrome de resistência ao hormônio
tireoidiano; THRB; Tireoide.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE IGOR DE CARVALHO DEPRÁ, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 09 dias do mês de agosto do ano de 2024, às 09:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de IGOR DE CARVALHO DEPRÁ, intitulada **Síndrome de Resistência ao Hormônio Tireoidiano: Mecanismos, Manifestações Clínicas e Implicações Terapêuticas**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. CELIA REGINA NOGUEIRA DE CAMARGO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. MIRIANE DE OLIVEIRA (Participação Virtual) do(a) Onkos Diagnósticos Moleculares / Ribeirão Preto, Profa. Dra. ADRIANA LUCIA MENDES (Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. NANCY BUENO FIGUEIREDO (Participação Presencial) do(a) Universidade Nove de Julho - Bauru, Profa. Dra. SUSAN CHOW LINDSEY (Participação Virtual) do(a) Depto. de Medicina / EPM/São Paulo - Unifesp. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dra. CELIA REGINA NOGUEIRA DE CAMARGO

DEDICATÓRIA

À minha filha Amélie

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, a quem devo tantas oportunidades;

À Dra. Maria Cristina Crês, que gentilmente colaborou neste processo;

A Francisco, Mariella e Simone, a quem um dia retribuirei;

À Unidade de Pesquisa Experimental e ao Instituto de Biotecnologia, pelo apoio generoso à realização deste projeto;

Aos colegas de laboratório, por compartilhar os altos e baixos desta experiência;

Aos meus familiares, pela paciência;

À Dra. Gláucia M. F. S. Mazeto, pelo incentivo;

A todos os que me estimularam a seguir adiante.

“Não se devia permitir nos relógios de parede esses ponteiros
que marcam os segundos: eles nos envelhecem muito
mais que o ponteiro das horas.”

Mário Quintana

Resumo

A síndrome de resistência ao hormônio tireoidiano beta (RHT β) é causada por mutações no gene codificante da isoforma beta do receptor de hormônio tireoidiano (*THRB*). Caracterizada bioquimicamente pela elevação sérica de tiroxina (T4) sem supressão do hormônio tireoestimulante (TSH), possui manifestação clínica variada, podendo afetar diferentes órgãos, e sua peculiaridade está na manifestação simultânea de sinais de hipo e hipertireoidismo. Recentemente, foi descrita uma mutação previamente desconhecida, substituindo a leucina do códon 341 por valina (L341V), que causa RHT β , porém com pouca informação sobre a manifestação clínica. Neste estudo, foi acompanhada a evolução clínica da síndrome em uma família não relacionada, também portadora da mutação L341V, ao longo de 13 anos, encontrando características ausentes na literatura.

Abstract

Thyroid hormone resistance syndrome beta (THR β) is caused by mutations in the gene coding the beta isoform of thyroid hormone receptor (*THRB*). Biochemically, it is characterized by elevation of serum thyroxine (T4) with unsuppressed thyrostimulating hormone (TSH), and has variable clinical manifestation, potentially affecting various organ systems. Its peculiarity resides in the simultaneous occurrence of hipo- and hiperthyroidism hallmarks. It has been recently described a novel mutation, substituting leucine for valine in codon 341 of *THRB*, causing THR β , though little information was reported on its clinical manifestation. This study reports the 13-year follow up of an unrelated family, also harboring the L341V mutation, finding characteristics previously absent in the literature.

Sumário

1. Introdução.....	8
1.1. Ação fisiológica dos hormônios tireoidianos (HT).....	8
1.2. Receptores de HT (TR) e seus mecanismos de ação.....	12
1.3. Síndrome de resistência a hormônio tireoidiano tipo β (RHT β).....	15
1.4. Outras síndromes de resistência ao hormônio tireoidiano.....	20
1.5. Justificativa.....	25
1.6. Objetivo.....	25
2. Referências.....	26
3. Artigo.....	40
Resumo.....	41
Introdução.....	41
Pacientes e métodos.....	43
Resultados.....	44
Discussão.....	47
Conclusão.....	48
Referências.....	49
4. Anexo.....	52
4.1. Métodos suplementares – Extração de DNA de raspagem bucal.....	52
4.2. Métodos suplementares – Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	52
4.3. Métodos suplementares – Purificação das PCRs.....	53
4.4. Métodos suplementares – Sequenciamento Sanger.....	53
4.5. Resultados suplementares.....	55

1. Introdução

1.1. Ação fisiológica dos hormônios tireoidianos (HT)

A capacidade de produzir ou metabolizar hormônios tireoidianos (HT) é encontrada amplamente no reino animal. Seus efeitos no desenvolvimento embrionário e larval são observados em diversos grupos de invertebrados, incluindo moluscos e equinodermos [1]. Em cordados, determinam o início da metamorfose de peixes [2] e anfíbios [3], e são indispensáveis para o desenvolvimento do sistema nervoso central [4,5] o que é demonstrado pelos efeitos deletérios do hipotireoidismo congênito no desenvolvimento cerebral em humanos [6]. No indivíduo adulto, alguns de seus efeitos mais notáveis incluem o controle da taxa metabólica basal e da produção de calor [7], além de funções fisiológicas concomitantes, como regulação do apetite [8], cujo efeito último é suprir os tecidos estimulados com os nutrientes necessários para sustentar o metabolismo. Há, ainda, efeitos tratados como pleiotrópicos por não terem relação óbvia com as alterações metabólicas, como a aceleração do *turnover* ósseo [9].

Em vertebrados, os HT são produzidos pela glândula tireoide, cujo parênquima consiste de estruturas globulares microscópicas denominadas folículos, preenchidas por uma substância coloidal e delimitadas por um epitélio simples de células foliculares. A partir dessa substância coloidal, as células foliculares sintetizam e secretam duas formas de HT, L-tiroxina (T4), sendo esta a forma majoritária, e 3,5,3'-triiodo-L-tironina (T3). Na circulação, cerca de 0,03% do T4 e 0,3% do T3 encontram-se livres, estando a maior fração ligada à globulina ligadora de tiroxina (TBG) e, em menor proporção, à transtirretina (TTR) e à albumina sérica, o que contribui para a estabilização dos níveis séricos de HT, cuja regulação será detalhada a seguir [10].

1.1.1. Regulação das concentrações de HT

Sistemicamente, as concentrações de HT circulantes são mantidas dentro de um intervalo estreito pelo sistema de *feedback* negativo conhecido como eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. A produção e secreção de HT pela glândula tireoide depende de estímulo por hormônio tireoestimulante, ou tireotropina (TSH), produzido

pela hipófise. Esta, por sua vez, recebe estímulo do hipotálamo, via hormônio liberador de tireotropina (TRH). TRH e TSH são polipeptídeos cujos genes estão sob o controle do receptor de HT (TR), que reprime a expressão de ambos à medida que aumenta a concentração de T3, como será detalhado na Seção 1.2 [11]. Assim, em condições fisiológicas, elevações nos níveis séricos de HT são compensadas por uma repressão da expressão gênica e da secreção de TRH e TSH, causando diminuição na produção e secreção de HT pela tireoide (**Figura 1**).

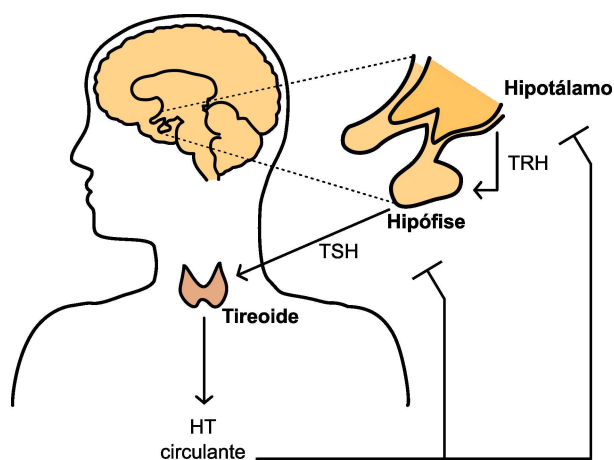


Figura 1. Esquema anatômico mostrando a autorregulação da concentração sérica de hormônio tireoidiano (HT), cuja secreção pela glândula tireoide é provocada pelo hormônio tireoestimulante (TSH), por sua vez secretado pela hipófise em resposta ao estímulo pelo hormônio liberador de tireotropina (TRH), secretado pelo hipotálamo. A elevação na concentração sérica de HT reprime a síntese e a secreção de TRH e TSH, reduzindo assim a produção do primeiro. Ref. [11].

Portanto, ajustes na concentração sistêmica de HT dependem, principalmente, da sensibilidade do hipotálamo e da hipófise ao HT, e alguns fatores podem alterar esta sensibilidade, causando uma elevação ou redução nos HT circulantes e levando à resposta fisiológica apropriada. Por exemplo, em camundongos, a produção de TSH no hipotálamo é reduzida na presença de infecções, levando a uma redução em T4 e T3 circulantes [12]. Outro estímulo capaz de modular a regulação de HT pelo hipotálamo é a disponibilidade de nutrientes, variável monitorada intracelularmente pela proteína-quinase ativada por AMP (AMPK); esta proteína, ativada por baixas concentrações de nutrientes, é capaz de

reprimir a estimulação da tireoide pelo hipotálamo, também levando a uma redução sistêmica de HT [13], o que, provavelmente, protege o organismo contra o consumo excessivo de suas reservas energéticas.

Diferentes tecidos podem, no entanto, apresentar diferentes sensibilidades às concentrações sistêmicas de HT, pois as ações intracelulares destes dependem de outros fatores além de suas concentrações séricas, sendo de especial importância o transporte transmembrana, o metabolismo por iodotironina desiodases¹ e os receptores de HT, cujos padrões de expressão variam entre tipos celulares [14]. O transporte de HT através da membrana plasmática depende da facilitação por transportadores específicos, sendo conhecidas atualmente 16 proteínas com habilidade de transportar HT, das quais MCT8 mostrou-se a mais específica e uma das mais amplamente expressas; a expressão de transportadores de HT varia entre tecidos, com um padrão particularmente complexo no cérebro, onde se acredita que diferentes transportadores são necessários para que os HT atravessem a barreira hematoencefálica e cruzem a membrana plasmática de diferentes populações de células [15]. Também se sabe que alguns desses transportadores transportam preferencialmente T4 ou T3 [16].

Por sua vez, o metabolismo intracelular de HT é realizado por três diferentes iodotironina-desiodases – D1, D2 e D3, sendo as duas últimas consideradas mais efetivas na regulação intracelular de T3 [17]. Considera-se que T3 seja o HT fisiologicamente mais relevante, embora T4 seja produzido em maior quantidade pela tireoide e seja o HT predominante na circulação [10]; assim, a atividade biológica da molécula dos HT depende principalmente da conversão de T4 em T3 pela remoção do átomo de iodo (I) do carbono 5', reação que pode ser catalisada por D1 ou D2. No sentido contrário, a atividade intracelular de HT pode ser reduzida por D3, que catalisa a remoção do átomo de iodo da posição 5 da molécula de T4, gerando 3,3',5'-triodotironina (T3 reverso, rT3), ou de T3, gerando 3,3'-diiodotironina (T2); ambos os metabólitos resultantes, rT3 e T2, são considerados biologicamente inativos [17].

¹ Na literatura em português, predominam as formas “deiodinase” e “desiodase”; aqui será adotada a segunda, por entender ser esta uma adaptação apropriada à língua portuguesa.

Assim como ocorre com a regulação dos níveis sistêmicos de HT, seus níveis intracelulares também podem ser controlados por mecanismos de *feedback* em que a concentração de HT regula a expressão de desidases, além de serem modulados por sinais relacionados ao metabolismo energético, como AMP cíclico (cAMP), insulina e hipóxia, permitindo uma interação entre a regulação por HT e outras vias de sinalização [18]. As desidases expressas fora da tireoide contribuem significativamente para a concentração sérica de T3 [19], e, no cérebro, células da glia contribuem para o suprimento de T3 aos neurônios de forma parácrina [15,20]. A importância dos transportadores de HT e das desidases como fatores regulatórios é ilustrada pelo fato de que certos efeitos fisiológicos dependem de alterações na sua expressão local, na ausência de alterações sistêmicas dos níveis de HT, como na diferenciação de células precursoras em diversos tecidos [21,22], e pelo fato de que a expressão de D3 é necessária para a manutenção de níveis adequados de T3 na circulação fetal [23] e no cerebelo durante o desenvolvimento intrauterino [24].

1.1.2. Via canônica de sinalização por T3

Por último, a atividade intracelular de T3 depende da expressão dos receptores de HT (detalhados na seção 1.2) e, alternativamente, de outras proteínas com afinidade a T3 ou T4. De fato, foi proposta uma nomenclatura em que são consideradas quatro formas de regulação dependente de HT [25], das quais a regulação gênica dependente da ligação direta do receptor de HT ao DNA é o mecanismo relevante para RHT β .

Esta, conhecida como a via canônica de sinalização do HT, é responsável pelos efeitos fisiológicos mais emblemáticos, que envolvem aumento do consumo energético e da produção de calor. Seu mecanismo de regulação, que será detalhado na seção 1.2, ocorre a nível transcricional e depende de sequências específicas localizadas, via de regra, na região promotora do gene alvo, adjacente ao sítio de início de transcrição. Alguns exemplos de alterações promovidas pelo HT pela via canônica incluem 1) no miocárdio, maior expressão, proporcionalmente, de cadeias de miosina de contração rápida [26] 2) no músculo esquelético, maior expressão da isoforma 1 da bomba de cálcio SERCA (gene *ATP2A1*), que promove ciclos de contração muscular mais rápidos em relação à isoforma 2 [27], 3) no

glomérulo renal, em ratos, o estímulo da expressão do cotransportador de sódio e fósforo inorgânico tipo 2 (NaPi-2, gene *Slc34a1*), aumentando a reabsorção destes minerais [28], 4) no tecido adiposo marrom e músculo esquelético, a superexpressão da proteína desacopladora 3 (UCP-3), que promove o transporte de prótons independente da síntese de ATP, provocando a dissipação de calor [29, 30], e 5) no fígado, a indução do gene do receptor de LDL, que contribui para a diminuição da concentração sanguínea de colesterol [31].

1.2. Receptores de HT (TR) e seus mecanismos de ação

Os TR pertencem a uma família de fatores transcricionais conhecida como receptores nucleares, por sua localização preferencial no núcleo celular. Estas proteínas, em sua maioria, atuam como receptores para hormônios e apresentam um padrão estrutural notavelmente constante, cuja principal característica é a presença de uma região de ligação do DNA e outra de ligação específica ao hormônio [32]. Existem receptores nucleares conhecidos para vitamina D, andrógenos e estrógenos, entre outros ligantes, além de outros membros da família que aparentemente não possuem afinidade específica a hormônios [33]. Tipicamente, os receptores nucleares conjugam-se em heterodímeros ou homodímeros, que regulam a expressão gênica, positiva ou negativamente, ligando-se a sequências específicas na região promotora de seus genes-alvos. Estas sequências podem ser repetidas e orientadas de maneira direta ou invertida [34]. O sítio de ligação do TR, conhecido como elemento responsivo a HT (*thyroid response element*, em inglês; TRE) e o sítio de ligação do receptor de vitamina D reconhecem a mesma sequência, porém com espaçamentos diferentes [35]. Por último, a regulação gênica por receptores nucleares requer a ligação do receptor a um complexo coativador, cujo papel envolve a remodelação da cromatina pela acetilação de histonas, o recrutamento de RNA polimerase e a ativação da transcrição gênica, ou de um complexo correpressor, que promove a desacetilação de histonas e a compactação da cromatina, levando à repressão gênica [36] (**Figura 2**).

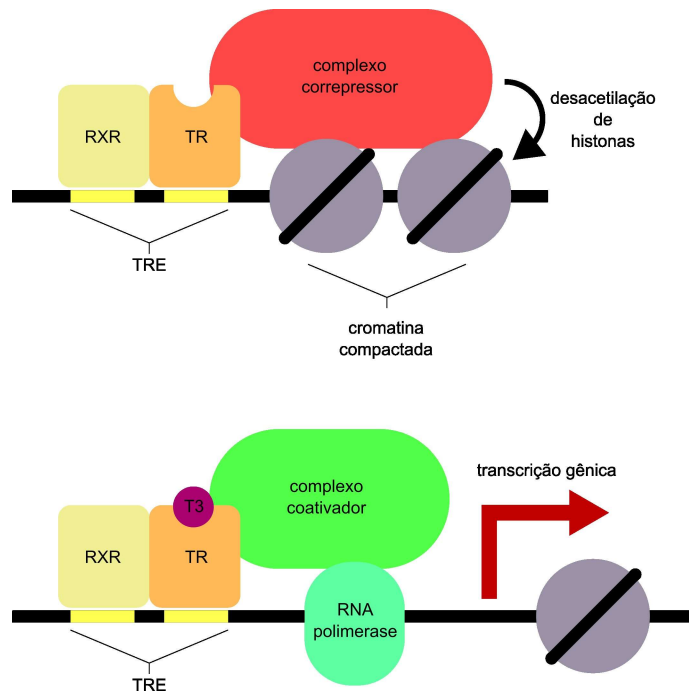


Figura 2. Representação esquemática da regulação gênica por triiodotironina (T3), pela via canônica. A figura ilustra a regulação positiva de um gene alvo pelo receptor de hormônio tireoidiano (TR), que normalmente forma um heterodímero com o receptor X retinoide (RXR), que se liga ao elemento responsivo a T3 (TRE), sequência específica localizada na região promotora do gene alvo. O TR não ligado a T3 recruta o complexo corressor, que promove a desacetilação de histonas e a compactação da cromatina, reprimindo a expressão gênica. Ao ligar-se a T3, o TR sofre uma mudança conformacional, desacoplando-se do complexo corressor e associando-se ao complexo coativador, que promove a acetilação de histonas, expondo a cromatina, e recruta a RNA polimerase, ativando a transcrição gênica. Outros genes alvos, notadamente os genes da tireotropina (TSH) e hormônio liberador de tireotropina (TRH), são regulados negativamente pelo hormônio tireoidiano, pelo mecanismo inverso ao aqui representado. Ref. [33-36].

Em todos os craniados (grupo que inclui os vertebrados), os TR são codificados por dois genes parálogos (resultantes da duplicação de um gene ancestral) [37]. Em humanos, são codificados pelos genes *THRA* e *THRB*, localizados nos cromossomos 17 e 3, respectivamente, e cada um destes genes produz diferentes isoformas, que serão detalhadas a seguir. O gene *THRA* foi isolado em 1983, usando técnicas de hibridização de ácidos nucleicos, com base em sua homologia ao gene *v-erb-A* do vírus da eritroblastose aviária, sendo nomeado inicialmente *c-erb-A*, e sua localização cromossômica foi mapeada por um estudo

subsequente [38]. Em 1986, foi isolado um novo gene homólogo a v-erb-A, que codificava uma proteína com sequência aminoacídica consideravelmente semelhante à de certos receptores nucleares; hipotetizando tratar-se de um novo receptor, os autores confirmaram experimentalmente a afinidade da proteína a HT, reconhecendo-a como um TR [39].

Até hoje, foram identificadas 7 isoformas codificadas pelo *THRA*, das quais apenas TR α 1 atua ligando-se diretamente ao DNA, enquanto TR α 2, que não possui habilidade de ligação a T3, exerce, segundo se acredita, uma função inibitória sobre outras isoformas de TR, e TR α 3, é uma isoforma hipotética baseada em estudos *in silico* [34]; mais recentemente, foi identificada a isoforma TR α p30, encontrada originalmente na membrana plasmática de osteoblastos e que parece atuar exclusivamente na sinalização não-genômica, ou seja, pós-transcricional, sem influência na transcrição gênica [40]. Quanto ao TR β , são conhecidas, em humanos, além das duas isoformas mais estudadas TR β 1 e TR β 2, quatro outras isoformas codificadas pelo gene *THRB*, das quais TR β Δ , TR β Δ 2 e TR β 3 também ligam-se a T3 e a elementos responsivos, enquanto TR β Δ 3 apenas liga-se a T3 [41-43].

Além de as isoformas de TR conservarem grande similaridade entre si, são também rigorosamente conservadas entre os cordados, principalmente nas suas regiões de ligação ao DNA e a T3. Além dessa estreita similaridade, desempenham funções em grande parte sobrepostas como fatores transcricionais, e as razões das especificidades de cada isoforma permanecem pouco conhecidas [44]. Na espécie humana, distribuem-se de maneira bastante distinta pelo organismo e, em camundongos, há predominância de TR α 1 na maioria dos órgãos, TR α 2 no cérebro, TR β 1 no fígado e rins, e TR β 2, na retina e cóclea, sendo necessária para o desenvolvimento normal desses órgãos, e também no hipotálamo e hipófise, onde realiza o controle da concentração de HT circulantes [45].

Os segmentos das isoformas de TR que mais divergem entre si não estão relacionados à ligação a DNA ou a T3, de modo que as diferenças funcionais entre as isoformas devem estar relacionadas à sua capacidade de interagir com diferentes proteínas regulatórias e diferentes complexos transcricionais [14]. Recentemente, foi descoberto um novo mecanismo de regulação do TR β 2 no hipotálamo e hipófise,

pela fosforilação da serina na posição 101 de sua cadeia peptídica, o que afeta sua taxa de degradação; uma vez que as outras isoformas de TR não possuem esse sítio de fosforilação, este fato lança nova luz sobre os significados biológicos das diferenças estruturais entre as isoformas em humanos [13].

1.3. Síndrome de resistência a hormônio tireoidiano tipo β (RHT β)

O primeiro relato de resistência a hormônio tireoidiano (RHT) – o termo RHT β [46] é usado hoje em distinção a outras formas de RHT descobertas posteriormente, que serão tratadas na seção 1.4 – foi fornecido por Refetoff e colaboradores, em 1967 [47], observando dois filhos de um casal consanguíneo que apresentavam surdez, bócio, elevados níveis de iodo ligado a proteína, indicando níveis sanguíneos elevados de HT, e epífises pontilhadas, uma característica que pode ser causada também por hipotireoidismo na infância [48]. Considerando a ocorrência simultânea de características de hipo e hipertireoidismo, os autores propuseram uma síndrome de insensibilidade a HT em órgãos específicos, o que veio a ser confirmado e melhor compreendido após a descoberta dos receptores de HT (TR) e dos genes que os codificam, e de seu padrão de expressão [38, 39].

Atualmente, o critério diagnóstico para RHT β é a presença de T4 elevado sem supressão de TSH (este podendo estar normal ou elevado), mas o sequenciamento do *THRB* faz-se necessário para excluir as hipóteses de adenoma hipofisário secretor de TSH e hipertiroxinemia disalbuminêmica familiar, que podem levar ao mesmo perfil bioquímico [49]. À medida que o sequenciamento do *THRB* tornou-se rotineiro no diagnóstico de pacientes com T4 elevado e TSH não suprimido, rapidamente o número de famílias afetadas aumentou para 80 na década de 1990 [50]. Desde então, tornou-se possível estimar a incidência da síndrome, cerca de 1 em 40.000 nascimentos [51], e caracterizar com precisão o padrão de alterações moleculares que a causam, principalmente devido ao esforço do grupo de Refetoff. Contavam-se, em 2013, 3.000 indivíduos afetados em 1.000 famílias, em números aproximados. Quase todos os pacientes com RHT β genotipados até hoje apresentam mutações de substituições de base, pequenas deleções ou inserções, que ocorrem em heterozigose, afetando apenas o domínio de ligação a T3 (*ligand binding domain*, LBD) do TR β [52]. Atualmente, apenas três famílias com mutações

deste tipo em homozigose ou hemizigose (deleção do outro alelo) foram relatadas, com manifestação distintamente severa [53,54], mostrando que o alelo mutante não é capaz de abolir completamente a atividade do alelo normal.

Os estudos funcionais *in vitro* mostram que mutações causadoras da RHT β reduzem a atividade transcricional do receptor e, na maioria das vezes, sua afinidade de ligação a T3 [14]. Estudos cristalográficos realizados com receptores mutantes demonstram, ainda, que estes falham em adquirir a conformação final do receptor ligado a T3, que envolve o dobramento da hélice 12, que possui afinidade ao hormônio, mesmo que a ligação a T3 não seja comprometida [55]. Em seu mecanismo, a dominância negativa do alelo mutante depende da retenção da habilidade de ligação ao DNA e ao complexo corressor (ver Seção 1.2), que permanece associado ao TR mesmo na presença de T3, mantendo a repressão do gene alvo. Assim, a liberação do complexo repressor e o acoplamento ao complexo coativador, na presença de T3, tornam-se drasticamente comprometidos no TR mutante à medida que a alteração afeta a ligação ao hormônio, ou a mudança conformacional induzida pela ligação [36].

Embora mais raros, casos severos foram relatados. Acredita-se que em muitos destes indivíduos a RHT afete mais a regulação da secreção de TSH do que a ação periférica do T3, ao que a literatura se refere como RHT hipofisária; como consequência, acredita-se, a secreção anormalmente alta de HT não é compensada pela sensibilidade tecidual reduzida, causando sintomas de hipertireoidismo [56]. Wu e colaboradores descrevem um recém-nascido com níveis excepcionalmente altos de TSH e T3 e com apresentação clínica típica de tireotoxicose, incluindo desconforto respiratório, taquicardia e diaforese [57]. Ainda que os autores tenham detectado alterações na interação do receptor mutante com o complexo repressor, não foi possível apontar a razão de o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide apresentar maior resistência nesse caso. Uma outra mutação, R429Q, foi bem caracterizada neste aspecto. Tendo sido primeiro relatado em uma paciente com sintomas semelhantes a hipertireoidismo, foi demonstrado, *in vitro*, que a insensibilidade deste TR β mutante a HT dá-se apenas em genes negativamente regulados por T3, caracterizando, portanto, uma RHT hipofisária, uma vez que os genes dos

hormônios reguladores da secreção de HT são negativamente regulados pelo TR β [58].

O maior esforço realizado até hoje no sentido de caracterizar a síndrome foi o estudo de coorte realizado em 1995 pelo National Institutes of Health (NIH), dos EUA, em que indivíduos normais e afetados de 42 famílias foram avaliados em relação a achados clínicos previamente relatados. As marcas mais proeminentes da RHT β , segundo esse estudo, foram bócio, surdez e mutismo parciais, infecções frequentes do ouvido e vias aéreas superiores, atraso na idade óssea, afetando crianças, e transtorno de déficit de atenção com hiperatividade (TDAH) [59].

Estima-se que o principal motivo que leva à investigação RHT β em adultos afetados seja a presença de bócio [60]. Há relatos de que a prevalência de bócio esteja entre 66 e 95% em pacientes com RHT β [61]. O mecanismo comumente aceito para seu desenvolvimento envolve a estimulação por TSH, embora grande parte dos indivíduos apresente bócio na presença de níveis normais de TSH. Este fato é parcialmente esclarecido pela descoberta de que este hormônio pode ter atividade aumentada em indivíduos com RHT β [62]. O bócio geralmente ocorre na ausência de sintomas associados e sua remoção cirúrgica não é indicada, devido à alta taxa de recorrência; recomenda-se tratar o bócio sintomático com doses suprafisiológicas de T3 para manter o TSH a níveis baixos [63].

Um achado intrigante em RHT β é a ocorrência de infecções frequentes das vias aéreas superiores e ouvido. A prevalência desta queixa é bastante elevada [59], mas não se encontram causas óbvias. A hipótese de que alguma malformação do aparelho auditivo contribísse para isso chegou a ser levantada, dada a incidência de surdez parcial e o conhecido papel do TR β 2 no desenvolvimento do ouvido interno, mas não foi encontrada associação significativa entre infecções recorrentes e surdez [64].

Por outro lado, há evidências de que os HT influenciem a função imunitária, ideia que começou a ser considerada há mais de um século [65]. Estudos mais recentes revelam que esta influência pode ser complexa, mas foi mostrado que em células dendríticas, que expressam D2 e D3, a apresentação de antígenos é estimulada por T3 via TR β , enquanto células *natural killers* respondem com aumento

da atividade citotóxica e ativação por interferon gama, sugerindo que a função imunitária, tanto inata quanto adaptativa, pode ser estimulada por HT [66]. Embora poucos estudos tenham avaliado a expressão de TR em células sanguíneas, sabe-se que TR β é expresso em macrófagos e que sua expressão é estimulada por interferon gama [67]. Juntos, esses resultados sugerem que concentrações normais de HT são necessárias para uma resposta imunitária robusta e que mutações no *THRB* podem ser prejudiciais nesse sentido, sendo este um aspecto da RHT β que se assemelha a hipotireoidismo.

Das manifestações da RHT β , o TDAH talvez seja a que mais impacta a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Na população geral, o TDAH é relativamente comum na infância, com uma prevalência estimada em 2.2–17.8% [68], com a tendência de abrandamento dos sintomas em adultos [69]. Em RHT β , porém, o estudo citado do NIH [59] encontrou esta condição dramaticamente mais prevalente, afetando 73% das crianças e 42% dos adultos. Um outro estudo verificou que portadores de mutações apresentam, em média, um número maior de sintomas de TDAH do que indivíduos não portadores, mesmo incluindo aqueles não diagnosticados com TDAH [70]. Embora não tenham sido realizados grandes estudos clínicos com esta finalidade, um estudo avaliou a eficácia de administrar T3 a um pequeno grupo de crianças com RHT β e TDAH, demonstrando melhoras objetivas, enquanto o grupo de crianças apenas com TDAH praticamente não respondeu ao tratamento [71]. A ausência de outros estudos semelhantes provavelmente está relacionada à questão ética envolvida. Um estudo de caso relata sucesso com um análogo de T3, ácido triiodotiroacético (TRIAC) [72].

Estes sucessos no tratamento da TDAH com HT sugerem que parte significativa da função cerebral depende da sinalização via TR β , o que levanta questões sobre o desenvolvimento intrauterino, particularmente em crianças com RHT β de mães não afetadas. A presença de HT em níveis normais durante a gestação e início da infância é crítica para o desenvolvimento do sistema nervoso central [73]. Além disso, durante os primeiros meses de gestação, o feto depende do HT fornecido pela mãe [23]. As evidências disponíveis são, no entanto, contraditórias. Em humanos, um estudo encontrou associação entre ocorrência de TDAH e baixo TSH ao nascer, presumivelmente ligado a hipertireoidismo [74]. Em

camundongos com um alelo mutante de TR β , que sofrem de hipertireoidismo apenas durante o início da vida extrauterina, desenvolvem sintomas de TDAH e hiperatividade que perduram até a idade adulta [75]. Outro estudo, que foi o único a medir diretamente o nível materno de HT, obteve resultado contrário, associando TDAH a insuficiência moderada de HT [76]

Além do TDAH, um suprimento inadequado de HT poderia causar déficit cognitivo em RHT β [73]. Além do que foi mencionado no parágrafo anterior, há estudos apontando que tanto o excesso quanto a falta de HT no início da gravidez podem causar danos, mesmo que pequenos, ao desenvolvimento intelectual da criança, na forma de menor QI, volume de matéria cinzenta e volume do córtex cerebral [77,78]. Ainda assim, não há evidência forte de que a RHT β esteja associada a defeitos cognitivos graves. No estudo do NIH [59], o QI medido de adultos com mutação mostrou-se ligeiramente menor que o de indivíduos não afetados, mas os autores apontam que o retardo mental é raro na síndrome. Há exemplos esparsos na literatura, como um estudo de caso em que três pacientes de uma mesma família, com a mutação R316H, no penúltimo éxon do *THRB*, apresentaram baixo QI [79]. No entanto, na ausência de outros familiares afetados, a associação entre o achado e a mutação torna-se apenas especulativa.

Outros riscos devem ser ponderados durante a gravidez quando a mãe ou o feto carrega mutação do *THRB*. Enquanto pacientes com RHT β apresentam um grau de insensibilidade tecidual a HT que permite viver com hipertiroxinemia de forma frequentemente assintomática, há muito se especula que poderia haver consequências adversas da RHT β materna para um feto normal. Dado que os níveis de HT circulantes no feto parecem refletir os níveis maternos [23], supõe-se que o feto estaria exposto à hipertiroxinemia materna nesses casos, e sofreria de tireotoxicose. Se, ao contrário, uma mãe normal concebesse um feto portador de mutação, os níveis normais de HT fornecidos pela mãe seriam insuficientes para o feto. Embora no estudo do NIH [59] não tenham sido encontradas relações entre genótipo materno, genótipo fetal e os desfechos pós-natais avaliados pelos autores, um trabalho de 2004 observou, em uma família com mais de 200 indivíduos, uma maior taxa de abortos espontâneos entre mães com RHT β , ao mesmo tempo em que nasceram dessas mães mais crianças com RHT β do que normais [80],

sugerindo que os abortos sejam causados pelos efeitos deletérios do excesso de HT materno para o feto normal. Deve ser feita a ressalva de que todos os participantes afetados do estudo portavam a mesma mutação (R243Q).

Por outro lado, riscos gestacionais e infertilidade podem decorrer de alterações na fisiologia da mulher com RHT β . Neste contexto, há na literatura alguns estudos de casos que podem ser citados. Por exemplo, o de uma portadora da mutação M313T que passou a apresentar sintomas de tireotoxicose e oligomenorreia, e tentou engravidar sem sucesso por cinco anos; o quadro foi revertido reduzindo-se a tiroxinemia da paciente a níveis normais com propiltiouracil (PTU) [81]. Em outro caso relatado, uma paciente com RHT β , após ter tido um aborto espontâneo, foi tratada com PTU durante a segunda gravidez, que foi bem-sucedida e sem complicações [82]. Foi também relatado o caso de uma mulher portadora da mutação D351G com histórico de problemas comportamentais, taxa metabólica elevada e osteoporose, indicando tireotoxicose, que teve sete gestações, incluindo um aborto, um natimorto e dois recém-nascidos que foram a óbito [83]. Ainda que estudos de casos estejam sujeitos ao viés de seleção, não permitindo avaliar a prevalência ou a relevância de tais achados clínicos no contexto da síndrome, estes exemplos apontam um efeito negativo do excesso de HT na função reprodutora.

1.4. Outras síndromes de resistência ao hormônio tireoidiano

1.4.1. Síndromes ligadas a transportadores de HT

A síndrome de Allan-Herndon-Dudley (SAHD) foi caracterizada em 1944 como uma condição patológica ligada ao sexo [84,85], envolvendo retardo cognitivo e motor severo, hipotonia e atrofia muscular. Em 2004, três estudos independentes associaram a síndrome ao gene *SLC16A2*, localizado no cromossomo X, que codifica a proteína MCT8, um dos transportadores de HT, encontrando mutações em indivíduos não relacionados [86-88]. À época, os autores julgaram estar diante de uma nova síndrome, pois não se sabia do envolvimento de concentrações séricas alteradas de HT na SAHD. Um estudo subsequente examinou o perfil tireóideo e a sequência gênica de *SLC16A2* em famílias portadoras da SAHD previamente publicadas, demonstrando tratar-se da mesma entidade clínica, com T3

invariavelmente elevado, T4 baixo ou próximo ao limite inferior da normalidade e TSH normal ou pouco elevado, na presença de mutação no gene sequenciado [89].

A atividade anormalmente alta do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide deve-se, assim como em RHT β , a um hipotireoidismo tecidual do hipotálamo e da hipófise, porém as alterações de T4 e T3 diferem notavelmente entre as duas síndromes; hipotetiza-se que MCT8 também seja relevante para a secreção de T4 pelas células foliculares da tireoide, de modo que a tireoide de indivíduos afetados parece secretar relativamente mais T3 [16]. Recentemente, foi demonstrado que a expressão específica de MCT8 em células endoteliais cerebrais melhora sintomas neurológicos em um modelo de SAHD em camundongos, indicando que o transporte através da barreira hematoencefálica pode ser uma etapa limitante importante no suprimento neuronal de HT [90].

Em 2018, foi relatado o caso de uma adolescente que passou a apresentar sinais de neurodegeneração por volta de um ano de idade [91]. Segundo os autores, a paciente, aos 15 anos, apresentava demência e havia perdido a capacidade de falar e andar, entre outras disfunções neurológicas e motoras, e exames de imagem revelaram atrofia encefálica e baixo metabolismo de glicose em quase todas as áreas cerebrais. Na ausência de diagnóstico, foi sequenciado o exoma (regiões codificantes de todos os genes) da paciente por sequenciamento de nova geração (*next-generation sequencing*, em inglês; NGS), e encontrou-se uma mutação D252N, em homozigose, no gene *SLCO1C1*, que codifica o transportador de HT OATP1C1; *in vitro*, os autores mostraram que o transportador mutante tem a atividade severamente reduzida. Embora nenhum outro caso tenha sido relatado e a causalidade entre a deficiência de OATP1C1 e a neurodegeneração observada seja difícil de demonstrar experimentalmente, o baixo metabolismo cerebral é fortemente sugestivo de hipotireoidismo local e, notavelmente, os autores relatam que a paciente parece ter respondido a tratamento com TRIAC, que não depende de OATPC1 para ser transportado através da membrana plasmática.

1.4.2. Síndrome ligada ao metabolismo de hormônio tireoidiano

Como dito acima, os níveis intracelulares dos HT são determinados pela expressão das desidases D1, D2 e D3, de modo que uma deficiência em D1 e D2,

que catalisam a conversão de T4 a T3, pode acarretar insuficiência de T3 intracelular, mesmo que os níveis séricos de T4 estejam dentro da normalidade [17]. As desidases pertencem à categoria das selenoproteínas, polipeptídeos que contém selenocisteína, um aminoácido raro codificado pelo códon UGA, que normalmente funciona como códon de parada na síntese proteica. Sua incorporação na cadeia polipeptídica depende da presença, no mRNA, da sequência de inserção de selenocisteína (SECIS) e de diversos fatores proteicos, dos quais a proteína de ligação a SECIS (SPB2) tem participação crucial, ligando-se diretamente ao elemento SECIS no mRNA [92].

Em 2005, foi relatado o caso de uma família com três indivíduos que apresentavam sinais de disfunção tireoidiana, e a investigação *in vitro* apontou que suas células eram deficientes em produção de T3 via D2, sem ligação com o *locus* que codifica a enzima (gene *DIO2*). Dentre os *loci* aventados, os autores encontraram uma mutação em homozigose, indicando recessividade do alelo, no gene codificante de SBP2 (*SECISBP2*) [93]. Desde então, cresceu o número de pacientes com mutações confirmadas neste gene, além de ter sido descoberto que mutações no gene *TRU-TCA1-1*, que afetam a maturação do RNA transportador de selenocisteína, causam um fenótipo semelhante [94]. Manifestações comuns incluem atraso no crescimento e desenvolvimento psicomotor, tendo sido também observados também deficiência auditiva, infertilidade e fraqueza muscular em um adulto; porém, nem todos os achados clínicos podem ser atribuídos à disfunção no metabolismo de HT, pois a síntese de outras selenoproteínas também se encontra alterada nesses pacientes [92].

1.4.3. Resistência a hormônio tireoidiano tipo α

Em 2012 [95], foi descrita uma forma RHT causada por mutações no *THRA*, com características previsivelmente distintas daquelas da RHT β , posto que cada um dos genes predomina em diferentes tecidos. Além disso, sendo TR β a forma expressa no hipotálamo e hipófise, mutações no receptor α não provocam maior produção de HT pela tireoide, de modo que a baixa sensibilidade tecidual não é compensada por uma concentração hormonal elevada [45].

Desde a primeira publicação, foram relatadas pelo menos 22 novas mutações [96], com sintomatologia bastante consistente, que inclui atraso no crescimento, na idade óssea e no desenvolvimento neuropsicomotor, além de constipação. A mutação apresenta-se em heterozigose em todos os casos conhecidos e mostra um caráter dominante negativo *in vitro*, o que é esperado, dado o mecanismo de ação essencialmente idêntico ao do TR β [36]. Em parte dos casos, há elevação sanguínea de T3, com T4 dentro da faixa normal, podendo ocorrer níveis anormalmente baixos de T3 reverso [97]; este fato está de acordo com uma regulação das enzimas desidases pelo TR α , que estudos em camundongos corroboram [98].

Recentemente, foi relatada uma nova mutação (E173G) no *THRA*, cuja manifestação clínica é diferente das demais, e pode com justiça ser tratada como uma síndrome à parte [99]. Por meio de estudos funcionais, os autores mostraram que esta alteração tem efeito oposto ao das previamente conhecidas, aumentando a função das isoformas codificadas por este gene e tornando hipersensíveis a HT os tecidos com predominância da isoforma TR α 1. No entanto, o quadro clínico pode ser classificado como uma síndrome envolvendo resistência a HT, o que se deve aos órgãos que expressam TR α 2, cuja atividade inibitória *in vitro* mostrou-se elevada, sobrepujando as demais isoformas. Os indivíduos afetados apresentam deficiência intelectual e motora, obesidade, constipação, atrofia cerebral, taquicardia e TDAH, mas não as alterações ósseas presentes na RHT α típica.

1.4.4. Resistência a hormônio tireoidiano de etiologia desconhecida

Cerca de 10 a 26% dos casos de RHT que se comportam como RHT β não apresentam alterações no gene *THRB*, nem outra alteração genética conhecida [49,100]. Tendo sido reconhecido o primeiro caso em 1996 [101], foi hipotetizado que mutações em moléculas acessórias como receptor X retinoide (RXR), coativadores ou correpressores poderiam causar um fenótipo semelhante a RHT β , e foram sequenciados, além de *THRB*, os genes *THRA*, *RXRG*, *NCOR1*, *NCOR2* e *NCOA1* de alguns desses pacientes, sem sucesso [102]. Weiss, em 2008 [103], argumentou que algumas limitações técnicas podem ter contribuído para esse insucesso, como a possibilidade de mutações que ocorram em regiões intrônicas

não sequenciadas, ou que se apresentem em mosaïcismo, sendo a frequência alélica baixa demais para ser detectada pelo método de sequenciamento de Sanger, o único amplamente disponível à época. Hoje, porém, com as técnicas de NGS, que permitem o sequenciamento simultâneo de grandes regiões genômicas, seria possível contornar ambos os problemas. De fato, um estudo recente relata a ocorrência da mutação A317T em mosaïcismo, no *THRB* de um paciente, que foi detectada em diversos tecidos, com frequência alélica de 6 a 18%, usando este método [104], sugerindo que uma parte dos casos em que nenhuma mutação foi encontrada no TR β pode ser de falsos negativos.

Em indivíduos com T4 elevado sem supressão de TSH, estando descartadas mutações no *THRB* e demais hipóteses diagnósticas, é possível que esteja alterado outro elemento chave do *feedback* regulatório dos HT, como a concentração de T3 no hipotálamo e na hipófise. Dado que a concentração intracelular de T3 não depende apenas do transporte de T4, mas também de sua conversão a T3, não seria surpreendente encontrar alterações nos genes das desidases nesses casos. Sabe-se que camundongos desprovidos do gene *DIO2*, que codifica D2, apresentam maior concentração sérica de T4 sem supressão de TSH [105], e a ampla expressão desta desidase no organismo poderia levar a uma insensibilidade tanto periférica quanto pituitária como a observada em RHT β , possivelmente produzindo um fenótipo hormonal sérico semelhante. No entanto, até hoje essas mutações não foram encontradas em humanos com RHT, e a comprovação de que o padrão de herança é dominante em parte dos casos [101,106] sugere outra causa, pois apenas camundongos com deleção das duas cópias de *DIO2* apresentam o fenótipo. Curiosamente, um grupo relatou uma proporção maior de mulheres (25/9) do que de homens afetados em um conjunto de famílias [103], sugerindo que o defeito possa comprometer a viabilidade embrionária especificamente em indivíduos do sexo masculino – como pode ocorrer em defeitos dominantes ligados ao X [107] – ou que o gene afetado seja expresso diferentemente em mulheres e homens. Esta hipótese é interessante, pois em camundongos, por exemplo, TR β 2 parece ser mais expresso em fêmeas [45]. Em todo caso, é provável que as primeiras respostas para esta antiga questão venham de novos estudos baseados em NGS.

Desde o relato dos primeiros casos da RHT β por Refetoff, o avanço das técnicas moleculares permitiu a descoberta de múltiplas mutações com apresentações clínicas diversas. Porém, ainda são escassos os trabalhos correlacionando mutações e fenótipos, que permitiriam diagnosticar clinicamente a síndrome.

1.5. Justificativa

Uma nova mutação no gene *THRB*, L341V, foi descrita recentemente por outro grupo, porém os dados sobre a manifestação clínica da mutação são escassos; aqui se apresenta a evolução clínica detalhada da síndrome em uma família portadora da mutação, com aspectos previamente negligenciados.

1.6. Objetivo

Correlacionar genótipo e manifestações fenotípicas em uma família portadora da mutação L341V no gene *THRB*.

2. Referências

1. Taylor, E.; Heyland, A. Evolution of thyroid hormone signaling in animals: Non-genomic and genomic modes of action. *Molecular and Cellular Endocrinology* 459:14-20, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.05.019>
2. Campinho, M.A. Teleost metamorphosis: the role of thyroid hormone. *Frontiers in Endocrinology* 10:383, 2019. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00383>
3. Tata, J.R. Amphibian metamorphosis as a model for the developmental actions of thyroid hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology* 246 (1–2):10-20, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.11.024>
4. McNabb, F.M.A. The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in birds and its role in bird development and reproduction. *Critical Reviews in Toxicology* 37:163-193, 2007. <https://doi.org/10.1080/10408440601123552>
5. Hu, C.; Wang, S.; Wu, D.; Yan, C.; Wu, M. Subclinical hypothyroidism in pregnancy rats impaired offspring's spatial learning and memory and the cerebellar development. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 602:63-69, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.02.107>
6. Grüters, A.; Krude, H. Detection and treatment of congenital hypothyroidism. *Nature Reviews Endocrinology* (8):104–113, 2012). <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.160>
7. Nicolaisen, T.S.; Klein, A.B.; Dmytriyeva, O.; Lund, J.; et al. Thyroid hormone receptor α in skeletal muscle is essential for T3-mediated increase in energy expenditure. *The FASEB Journal* 34(11):15480-15491, 2020. <https://doi.org/10.1096/fj.202001258RR>
8. Mitchell, C.S.; Savage, D.B.; Dufour, S.; Schoenmakers, N. Resistance to thyroid hormone is associated with raised energy expenditure, muscle mitochondrial uncoupling, and hyperphagia. *The Journal of Clinical Investigation* 120(4):1345-1354, 2010. <https://doi.org/10.1172/JCI38793>
9. Gogakos, A.I.; Bassett, J.H.D.; Williams, G.R. Thyroid and bone. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 503(1):129-136, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.06.021>

10. Mimoto, M.S.; Refetoff, S. Clinical recognition and evaluation of patients with inherited serum thyroid hormone-binding protein mutations. *Journal of Endocrinological Investigation* 43:31-41, 2020. <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01084-9>
11. Ortiga-Carvalho, T.M.; Chiamolera, M.I.; Pazos-Moura, C.C.; Wondisford, F.E. Hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Comprehensive Physiology* 6(3), 2016. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150027>
12. Sinkó, R.; Mohácsik, P.; Kővári, D.; Penksza, V. Different hypothalamic mechanisms control decreased circulating thyroid hormone levels in infection and fasting-induced non-thyroidal illness syndrome in male thyroid hormone action indicator mice. *Thyroid* 33(1), 2023. <https://doi.org/10.1089/thy.2022.0404>
13. Minakhina, S.; Oliveira, V.; Kim, S.Y.; Wondisford, F.E. Thyroid hormone receptor phosphorylation regulates acute fasting-induced suppression of the hypothalamic–pituitary–thyroid axis. *Proceedings of the National Academy of Science* 118 (39) e2107943118, 2021. <https://doi.org/10.1073/pnas.2107943118>
14. Ortiga-Carvalho, T.M.; Sidhaye, A.R.; Wondisford, F.E. Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders. *Nature Reviews Endocrinology* 10(10):582–591, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.143>
15. Groeneweg, S.; van Geest, F.S.; Peeters, R.P.; Heuer, H.; Visser, W.E. Thyroid hormone transporters. *Endocrine Reviews* 41(2):146–201, 2020. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnz008>
16. Müller, J.; Heuer, H. Understanding the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in Mct8 deficiency. *European Thyroid Journal* 1(2):72-79, 2012. <https://doi.org/10.1159/000339474>
17. Bianco, A.C.; Conceição, R.R. The deiodinase trio and thyroid hormone signaling. In: Plateroti, M.; Samarut, J. (orgs.). *Thyroid hormone nuclear receptor - methods and protocols*. 1 ed. Nova York: Humana New York, 2018, p. 67-83. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7902-8>
18. Russo, S.; Salas-Lucia, F.; Bianco, A.C. Deiodinases and the Metabolic Code for Thyroid Hormone Action. *Endocrinology* 162(8):1-13, 2021. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqab059>

19. Lum, S.M.; Nicoloff, J.T.; Spencer, C.A.; Kaptein, E.M. Peripheral tissue mechanism for maintenance of serum triiodothyronine values in a thyroxine-deficient state in man. *The Journal of Clinical Investigation* 73(2):570-575, 1984. <https://doi.org/10.1172/JCI111245>
20. McAninch, E.A.; Jo, S.; Preite, N.Z.; Farkas, E.; et al. Prevalent polymorphism in thyroid hormone-activating enzyme leaves a genetic fingerprint that underlies associated clinical syndromes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100(3):920–933, 2015. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4092>
21. Mayerl, S.; Schmict, M.; Doycheva, Darras, V.M. et al. Thyroid Hormone Transporters MCT8 and OATP1C1 Control Skeletal Muscle Regeneration. *Stem Cell Reports* 10(6):1959-1974, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.03.021>
22. Dentice, M.; Marsili, A.; Zavacki, A.; Larsen, P.R.; Salvatore, D. The deiodinases and the control of intracellular thyroid hormone signaling during cellular differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830(7):3937-3945, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.05.007>
23. Patel, J.; Landers, K.; Li, H.; Mortimer, R.H.; Richard, K. Delivery of maternal thyroid hormones to the fetus. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 22(5):164-170, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2011.02.002>
24. Kester, M.H.A.; Mena, R.M.; Obregon, M.J.; Marinkovic, D. Iodothyronine levels in the human developing brain: major regulatory roles of Iodothyronine deiodinases in different areas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89(7):3117–3128, 2004. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031832>
25. Flamant, F.; Cheng, S.Y.; Hollenberg, A.N. Moeller, L.C. Thyroid hormone signaling pathways: time for a more precise nomenclature. *Endocrinology* 158(7):2052-2057, 2017. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00250>
26. Morkin, E. Regulation of myosin heavy chain genes in the heart. *Circulation* 87(5):1451-1460, 1993. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.87.5.1451>
27. Simonides, W.S.; Thelen, M.H.M.; Linden, C.G.; Muller, A.; Hardeveld, C. Mechanism of Thyroid-Hormone Regulated Expression of the SERCA Genes in Skeletal Muscle: Implications for Thermogenesis. *Bioscience Reports* 21:139-154, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1013692023449>

28. Alcalde, A.I.; Sarasa, M.; Raldúa, D.; Aramayona, J. Role of thyroid hormone in regulation of renal phosphate transport in young and aged rats. *Endocrinology* 140(4):1544-1551, 1999. <https://doi.org/10.1210/endo.140.4.6658>
29. Gong, D.W.; He, Y.; Karas, M.; Reitman, M. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, β 3-adrenergic agonists, and leptin. *The Journal of Biological Chemistry* 272(39):24129-24132, 1997. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.39.24129>
30. Salgado, R.M.; Sheard, A.C.; Vaughan, R.A.; Parker, D.L.; et al. Mitochondrial efficiency and exercise economy following heat stress: a potential role of uncoupling protein 3. *Physiological Reports* 5(3):e13054, 2017. <https://doi.org/10.14814/phy2.13054>
31. Lopez, D.; Socarrás, J.F.A.; Bedi, M.; Ness, G.C. Activation of the hepatic LDL receptor promoter by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1771(9):1216-1225, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2007.05.001>
32. Mangelsdorf, D.; Thummel, C.; Beato, M.; Herrlich, P. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 83:835-839, 1995. [https://doi.org/10.1016%2F0092-8674\(95\)90199-x](https://doi.org/10.1016%2F0092-8674(95)90199-x)
33. Weikum, E.R.; Liu, X.; Ortlund, E.A. The nuclear receptor superfamily: a structural perspective. *Protein Science* 27(11):1876-1892, 2018. <https://doi.org/10.1002/pro.3496>
34. Hönes, G.S.; Härting, N.; Mittag, J.; Kaiser, F.J. TR α 2—An untuned second fiddle or fine-tuning thyroid hormone action? *International Journal of Molecular Science* 23(13):6998, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23136998>
35. Umesono, K.; Murakami, K.K.; Thompson, C.C.; Evans, R.M. Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D₃ receptors. *Cell* 65(7):1255-1266, 1991. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90020-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90020-Y)

36. Zhang, J.; Lazar, M.A. The mechanism of action of thyroid hormones. *Annual Review of Physiology* 62:439-466, 2000. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.62.1.439>
37. Kassák, F.; Hána, V.; Saudek, V.; Kostrouchová, M. Novel mutation (T273R) in thyroid hormone receptor β gene provides further insight into cryptic negative regulation by thyroid hormone. *Folia Biologica (Praha)* 63:60-66, 2017. [PMID: 28557707](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28557707/)
38. Jansson, M.; Philipson, L.; Vennström, B. Isolation and characterization of multiple human genes homologous to the oncogenes of avian erythroblastosis virus. *The EMBO Journal* 2:561-565, 1983. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1983.tb01463.x>
39. Weinberger, C.; Thompson, C.C.; Ong, E.S.; Lebo, R.; Gruol, D.J.; Evans, R.M. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor. *Nature* 324:641–646, 1986. <https://doi.org/10.1038/324641a0>
40. Kalyanaraman, H.; Schwappacher, R.; Joshua, J.; Zhuang, S.; et al. Nongenomic thyroid hormone signaling occurs through a plasma membrane–localized receptor. *Science Signaling* 7(326), 2014. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2004911>
41. Zhao, R.L.; Sun, B.; Liu, Y.; Li, J.H; et al. Cloning and identification of a novel thyroid hormone receptor β isoform expressed in the pituitary gland. *Molecular and Cellular Biochemistry* 389:141-150, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1935-9>
42. Swanson, E.A.; Gloss, B.; Belke, D.D.; Kaneshige, M.; et al. Cardiac Expression and Function of Thyroid Hormone Receptor β and Its PV Mutant. *Endocrinology* 144(11):4820-4825, 2003. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0522>
43. Williams, G.R. Cloning and Characterization of Two Novel Thyroid Hormone Receptor β Isoforms. *Molecular and Cellular Biology* 20(22):8329-8342, 2000. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.22.8329-8342.2000>

44. Chatonnet, F.; Guyot, R.; Benoît, G.; Flamant, F. Genome-wide analysis of thyroid hormone receptors shared and specific functions in neural cells. *PNAS* 110(8):E766-E775, 2013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1210626110>
45. Minahkina, S.; Bansal, S.; Zhang, A.; Brotherton, M.; et al. A direct comparison of thyroid hormone receptor protein levels in mice provides unexpected insights into thyroid hormone action. *Thyroid* 30(8):1193–1204, 2020. <https://doi.org/10.1089/thy.2019.0763>
46. Refetoff, S.; Bassett, J.H.D.; Beck-Peccoz, P.; Bernal, J.; et al. Classification and proposed nomenclature for inherited defects of thyroid hormone action, cell transport, and metabolism. *Thyroid* 24(3), 2014. <https://doi.org/10.1089/thy.2013.3393.nomen>
47. Refetoff, S.; DeWind, L.T.; DeGroot, L.J. Familial syndrome combining deaf-mutism, stippled epiphyses, goiter and abnormally high PBI: possible target organ refractoriness to thyroid hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 27(2):279-294, 1967. <https://doi.org/10.1210/jcem-27-2-279>
48. Williams, G.R.; Bassett, J.H.D. Thyroid diseases and bone health. *Journal of Endocrinological Investigation* 41:99–109, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0753-4>
49. Ramos, L.S.; Kizys, M.M.L.; Kunii, I.S.; Spinola-Castro, A.M.; et al. Assessing the clinical and molecular diagnosis of inherited forms of impaired sensitivity to thyroid hormone from a single tertiary center. *Endocrine* 62:628-638, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1673-6>
50. Refetoff, S.; Weiss, R.E.; Usala, S.J. The syndromes of resistance to thyroid hormone. *Endocrine Reviews* 14(3):348-399, 1993. <https://doi.org/10.1210/edrv-14-3-348>
51. Moran, C.; McEniery, C.M.; Schoenmakers, N.; Mitchell, C.; et al. Dyslipidemia, insulin resistance, ectopic lipid accumulation, and vascular function in resistance to thyroid hormone β . *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 106(5):e2005–e2014, 2021. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab002>

52. Dumitrescu, A.M.; Refetoff, S. The syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830:3987-4003, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.08.005>
53. Frank-Raue, K.; Lorenz, A.; Haag, C.; Höppner, W. Severe form of thyroid hormone resistance in a patient with homozygous/hemizygous mutation of T3 receptor gene. *European Journal of Endocrinology* 150 819–823, 2004. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1500819>
54. Ferrara, A.M.; Onigata, K.; Ercan, O.; Woodhead, H.; Weiss, R.E.; Refetoff, S. Homozygous thyroid hormone receptor β -gene mutations in resistance to thyroid hormone: three new cases and review of the literature. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97(4):1328–1336, 2012. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2642>
55. Feng, W.; Ribeiro, R.C.J.; Wagner, R.L.; Nguyen, H.; et al. Hormone-dependent coactivator binding to a hydrophobic cleft on nuclear receptors. *Science* 280:1747-1749, 1998. <https://doi.org/10.1126/science.280.5370.1747>
56. Suzuki, S.; Shigematsu, S.; Inaba, H.; Takei, M.; Takeda, T.; Komatsu, M. Pituitary resistance to thyroid hormones: pathophysiology and therapeutic options. *Endocrine* 40:366-371, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9538-2>
57. Wu, S.Y.; Cohen, R.N.; Simsek, E.; Senses, D.A.; Yar, N.E., Grasberger, H.; Noel, J.; Refetoff, S.; Weiss, R.E. A Novel Thyroid Hormone Receptor- Mutation That Fails to Bind Nuclear Receptor Corepressor in a Patient as an Apparent Cause of Severe, Predominantly Pituitary Resistance to Thyroid Hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91(5):1887–1895, 2006. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-2428>
58. Flynn, T.R.; Hollenberg, A.N.; Cohen, O.; Menke, J.B.; Usala, S.J.; Tollin, S.; Hegarty, M.K.; Wondisford, F.E. A Novel C-terminal Domain in the Thyroid Hormone Receptor Selectively Mediates Thyroid Hormone Inhibition. *The Journal of Biological Chemistry* 269(52):32713-32716, 1994. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)30048-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)30048-X)

59. Brucker-Davis, F.; Skarulis, M.C.; Grace, M.B., Benichou, J.; Hauser, P.; Wiggs, E.; Weintraub, B.D. Genetic and Clinical Features of 42 Kindreds with resistance to thyroid hormone: the National Institutes of Health prospective study. *Annals of Internal Medicine* 123(8), 1995. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-123-8-199510150-00002>
60. Beck-Peccoz, P.; Chatterjee, V.K.K. The variable clinical phenotype in thyroid hormone resistance syndrome. *Thyroid* 4(2):225-232, 1994. <https://doi.org/10.1089/thy.1994.4.225>
61. Weiss, R.E.; Dumitrescu, A.; Refetoff, S. Approach to the patient with resistance to thyroid hormone and pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 95(7):3094-3102, 2010. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0409>
62. Persani, L.; Asteria, C.; Tonacchera, M.; Vitti, P.; et al. Evidence for the secretion of thyrotropin with enhanced bioactivity in syndromes of thyroid hormone resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 78(5):1034–1039, 1994. <https://doi.org/10.1210/jcem.78.5.8175956>
63. Pappa, T.; Refetoff, S. Resistance to thyroid hormone beta: a focused review. *Frontiers in Endocrinology* 12:656551, 2021. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.656551>
64. Brucker-Davis, F.; Skarulis, M.C.; Pikus, A.; Ishizawar, D.; Mastroiani, M.A.; Koby, M.; Weintraub, B.D. Prevalence and mechanisms of hearing loss in patients with resistance to thyroid hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 81(8):2768-2772, 1996. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.8.8768826>
65. Beebe, S.P. The relation of pathologic conditions in the nose and throat to the origin and treatment of hyperthyroidism. *JAMA* 63(9):769-773, 1914. <https://doi.org/10.1001/jama.1914.02570090055016>
66. Montesinos, M.D.M.; Pellizas, C.G. Thyroid hormone action on innate immunity. *Frontiers in Endocrinology* 10:350, 2019. DOI: 10.3389/fendo.2019.00350. Erratum in: *Front Endocrinol (Lausanne)* 10:486, 2019. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00486>

67. Barish, G.D.; Downes, M.; Alaynick, W.A.; Yu, R.T.; et al. A nuclear receptor atlas: macrophage activation. *Molecular Endocrinology* 19(10):2466-2477, 2005. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0529>
68. Skounti, M.; Philalithis, A.; Galanakis, E. Variations in prevalence of attention deficit hyperactivity disorder worldwide. *European Journal of Pediatrics* 166:117,123, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00431-006-0299-5>
69. Song, P.; Zha, M.; Yang, Q.; Zhang, Y.; et al. The prevalence of adult attention-deficit hyperactivity disorder: A global systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Health* 11:04009, 2021. <https://doi.org/10.7189/jogh.11.04009>
70. Hauser, P.; Zametkin, A.J.; Martinez, P.; Vitiello, B.; et al. Attention deficit-hyperactivity disorder in people with generalized resistance to thyroid hormone. *New England Journal of Medicine* 328(14):997-1001, 1993. <https://doi.org/10.1056/NEJM199304083281403>
71. Weiss, R.E.; Stein, M.A.; Refetoff, S. Behavioral effects of liothyronine (L-T3) in children with attention deficit hyperactivity disorder in the presence and absence of resistance to thyroid hormone. *Thyroid* (3):389-393, 1997. <https://doi.org/10.1089/thy.1997.7.389>
72. Anzai, R.; Adachi, M.; Sho, N.; Muroya, K.; Asakura, Y.; Onigata, K. Long-term 3,5,3'-triiodothyroacetic acid therapy in a child with hyperthyroidism caused by thyroid hormone resistance: pharmacological study and therapeutic recommendations. *Thyroid* 22(10):1069-1075, 2012. <https://doi.org/10.1089/thy.2011.0450>
73. Bongers-Schokking, J.J.; Keizer-Schrama, S.M.P.F.M. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on mental, psychomotor, and behavioral development in children with congenital hypothyroidism. *The Journal of Pediatrics* 147(6):768-774, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2005.09.031>
74. Villanger, G.D.; Ystrom, E.; Engel, S.M.; Longnecker, M.P.; et al. Neonatal thyroid-stimulating hormone and association with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatric and Perinatal Epidemiology* 34(5):590-596, 2020. <https://doi.org/10.1111/ppe.12643>

75. Siesser, W.B.; Zhao, J.; Miller, L.R.; Cheng, S.Y.; McDonald, M.P. Transgenic mice expressing a human mutant beta1 thyroid receptor are hyperactive, impulsive, and inattentive. *Genes, Brain & Behaviour* 5(3):282-297, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00161.x>
76. Modesto, T.; Tiemeier, H.; Peeters, R.P.; et al. Maternal mild thyroid hormone insufficiency in early pregnancy and attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms in children. *JAMA Pediatrics* 169(9):838–845, 2015. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2015.0498>
77. Korevaar, T.I.M.; Muetzel, R.; Medici, M.; Chaker, L.; et al. Association of maternal thyroid function during early pregnancy with offspring IQ and brain morphology in childhood: a population-based prospective cohort study. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 4(1)35:43, 2016. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00327-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00327-7)
78. Levie, D.; Korevaar, T.I.M.; Bath, S.C.; Dalmau-Bueno, A.; et al. Thyroid function in early pregnancy, child IQ, and autistic traits: a meta-analysis of individual participant data. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 103(8):2967–2979, 2018. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-00224>
79. Weiss, R.E.; Stein, M.A.; Duck, S.C.; Chyna, B.; et al. Low intelligence but not attention deficit hyperactivity disorder is associated with resistance to thyroid hormone caused by mutation R316H in the thyroid hormone receptor beta gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 78(6):1525–1528, 1994. <https://doi.org/10.1210/jcem.78.6.8200958>
80. Anselmo, J.; Cao, D.; Karrison, T.; Weiss, R.E.; Refetoff, S. Fetal loss associated with excess thyroid hormone exposure. *JAMA* 292(6):691-695, 2004. <https://doi.org/doi:10.1001/jama.292.6.691>
81. Blair, J.C.; Mohan, U.; Larcher, V.F.; Rajanayagam, O.; et al. Neonatal thyrotoxicosis and maternal infertility in thyroid hormone resistance due to a mutation in the TR β gene (M313T). *Clinical Endocrinology* 57(3):405-409, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2002.01588.x>
82. Heffernan, E.; Wallace, H.; Graham, U. Thyroid hormone resistance from misdiagnosis to successful pregnancy. *Endocrine Abstracts* 85:93, 2022. <https://doi.org/10.1530/endoabs.85.P93>

83. Pritchard, G.; Morris, S.; Wayte, A.; Chatterjee, V.K.K.; Halsall, D.; Wilton, A. Generalised resistance to thyroid hormone secondary to a novel heterozygous missense mutation with coincidental toxic nodular goitre. *Endocrine Abstracts* 19:351, 2009.
84. Allan, W.; Herndon, C.N.; Dudley, F. C. Some examples of the inheritance of mental deficiency: apparently sex-linked idiocy and microcephaly. *American Journal of Mental Deficiency*, 48(48), 325-34, 1944.
85. Stevenson, R.E.; Goodman, H.O.; Schwartz, C.E.; Simensen, R.J.; McLean Jr., W.T.; Herndon, C.N. Allan-Herndon syndrome. I. Clinical studies. *American Journal of Human Genetics* 47(3):446-453, 1990. [PMID: 2393019](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2393019/)
86. Dumitrescu, A.M.; Liao, X.H.; Best, T.B.; Brockmann, K.; Refetoff, S. A Novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene. *American Journal of Human Genetics* 74(1):168-175, 2004. <https://doi.org/10.1086/380999>
87. Friesema, E.C.H.; Grueters, A.; Biebermann, H.; Krude, H.; et al. Association between mutations in a thyroid hormone transporter and severe X-linked psychomotor retardation. *The Lancet* 364(9443):1435-1437, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17226-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17226-7)
88. Lenzner, S.; Rosenkranz, M.D.; Grueters, A.; et al. Severe X-linked mental retardation caused by mutations in the gene for the thyroid hormone transporter MCT8 (abstract C32). *European Human Genetics Conference*, 2004.
89. Schwartz, C.E.; May, M.M.; Carpenter, N.J.; Rogers, R.C.; et al. Allan-Herndon-Dudley syndrome and the monocarboxylate transporter 8 (MCT8) gene. *American Journal of Human Genetics* 77(1):41-53, 2005. <https://doi.org/10.1086/431313>
90. Sundaram, S.M.; Pereira, A.A.; Müller-Fielitz, H.; Köpke, H.; et al. Gene therapy targeting the blood-brain barrier improves neurological symptoms in a model of genetic MCT8 deficiency. *Brain* 145(12):4264-4274, 2022. <https://doi.org/10.1093/brain/awac243>
91. Stromme, P.; Groeneweg, S.; Souza, E.C.L.; Zevenbergen, C. Mutated thyroid hormone transporter OATP1C1 associates with severe brain hypometabolism and juvenile neurodegeneration. *Thyroid* 28(11), 2018. <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0595>

92. Dumitrescu, A.M.; Refetoff, S. Inherited defects of thyroid hormone metabolism. *Annales d'Endocrinologie* 72(2):95-98, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2011.03.011>
93. Dumitrescu, A.M.; Liao, X.H.; Abdullah, M.S.Y.; Lado-Abeal, J. Mutations in SECISBP2 result in abnormal thyroid hormone metabolism. *Nature Genetics* 37:1247-1252, 2005. <https://doi.org/10.1038/ng1654>
94. Lee, K.W.; Shin, Y.; Lee, S.; Lee, S. Inherited disorders of thyroid hormone metabolism defect caused by the dysregulation of selenoprotein expression. *Frontiers in Endocrinology* 12:803024, 2021. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.803024>
95. Bochukova, E.; Schoenmakers, N.; Agostini, M.; Schoenmakers, E.; et al. A mutation in the thyroid hormone receptor alpha gene. *New England Journal of Medicine* 366:243-249, 2012. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1110296>
96. Furman, A.E.; Dumitrescu, A.M.; Refetoff, S.; Weiss, R.E. Early Diagnosis and Treatment of an Infant with a Novel Thyroid Hormone Receptor α Gene (pC380SfsX9) Mutation. *Thyroid* 31(6):1003-1005, 2020. <https://doi.org/10.1089/thy.2020.0695>
97. Zavacki, A.M.; Larsen, P.R. RTH α , a Newly Recognized Phenotype of the Resistance to Thyroid Hormone (RTH) Syndrome in Patients With THRA Gene Mutations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98(7): 2684–2686, 2013. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2475>
98. Barca-Mayo, O.; Liao, X.H.; Alonso, M.; Di Cosmo, C.; Hernandez, A.; Refetoff, S.; Weiss, R.E. Thyroid hormone receptor α and regulation of type 3 deiodinase. *Molecular Endocrinology* 25(4):575-583, 2011. <https://doi.org/10.1210/me.2010-0213>
99. Paisdzior, S.; Knierim, E.; Kleinau, G.; Biebermann, H.; Krude, H.; Straussberg, R.; Schuelke, M. A new mechanism in THRA resistance: The first disease-associated variant leading to an increased inhibitory function of THRA2. *International Journal of Molecular Sciences* 22:5338, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22105338>

100. Persani, L.; Campi, I. Thyroid hormone resistance. In: Igaz, P. (org.) Practical clinical endocrinology. Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-62011-0_20
101. Weiss, R.E.; Hayashi, Y.; Nagaya, T.; Petty, K.J.; et al. Dominant inheritance of resistance to thyroid hormone not linked to defects in the thyroid hormone receptor alpha or beta genes may be due to a defective cofactor. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 81(12):4196-4203, 1996. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.12.8954015>
102. Hamon, B.; Hamon, P.; Bovier-Lapierre, M.; Pugeat, M.; et al. A child with resistance to thyroid hormone without thyroid hormone receptor gene mutation: A 20-year follow-up. Thyroid 18(1), 2008. <https://doi.org/10.1089/thy.2007.0079>
103. Weiss, R.E. "They have ears but do not hear" (Psalms 135:17): Non-thyroid hormone receptor β (non-TR β) resistance to thyroid hormone. Thyroid 18(1), 2008. <https://doi.org/10.1089/thy.2007.0373>
104. Donnars, A.; Leplat, A.; Grosheny, C.; Briet, C.; et al. Clinically symptomatic resistance to thyroid hormone β syndrome because of *THRB* Gene mosaicism. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 107(9):e3548–e3552, 2022. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac347>
105. Schneider, M.J.; Fiering, S.N.; Pallud, S.E.; Parlow, A.F.; St. Germain, D.L.; Galton, V.A. Targeted disruption of the type 2 selenodeiodinase gene (DIO2) results in a phenotype of pituitary resistance to T4. Molecular Endocrinology 15 (12):2137–2148, 2001. <https://doi.org/10.1210/mend.15.12.0740>
106. Reutrakul, S.; Sadow, P.M.; Pannain, S.; Pohlenz, J.; et al. Search for abnormalities of nuclear corepressors, coactivators, and a coregulator in families with resistance to thyroid hormone without mutations in thyroid hormone receptor β or α genes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(10):3609–3617, 2000. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.10.6873>
107. Rakheja, D.; Read, C.P.; Hull, D.; Boriack, R.L.; Timmons, C.F. A severely affected female infant with X-linked dominant chondrodysplasia punctata: A case

report and a brief review of the literature. *Pediatric and Developmental Pathology* 10(2), 2007. <https://doi.org/10.2350/06-06-0111.1>

3. Artigo

Relação entre genótipo e fenótipo em uma família portadora da mutação L341V, causadora da síndrome de resistência ao hormônio tireoidiano beta.

Genotype-phenotype relationship in a family carrying the mutation L341V, causing thyroid hormone resistance beta.

Resumo

A síndrome de resistência ao hormônio tireoidiano beta (RHT β) é causada por mutações no gene codificante da isoforma beta do receptor de hormônio tireoidiano (*THRB*). Caracterizada bioquimicamente pela elevação sérica de tiroxina (T4) sem supressão do hormônio tireoestimulante (TSH), possui manifestação clínica variada, podendo afetar diferentes órgãos, e sua peculiaridade está na manifestação simultânea de sinais de hipo e hipertireoidismo. Recentemente, foi descrita uma mutação previamente desconhecida, substituindo a leucina do códon 341 por valina (L341V), que causa RHT β , porém com pouca informação sobre a manifestação clínica. Neste estudo, acompanhamos a evolução clínica da síndrome em uma família não relacionada, também portadora da mutação L341V, ao longo de 13 anos, encontrando características ausentes na literatura.

Introdução

O primeiro relato de resistência a hormônio tireoidiano (RHT) – o termo RHT β é usado hoje em distinção a outras formas de RHT descobertas posteriormente^[1] – foi fornecido por Refetoff e colaboradores, em 1967^[2]. Considerando a ocorrência simultânea de características de hipo e hipertireoidismo, os autores propuseram uma síndrome de insensibilidade a HT em órgãos específicos, o que veio a ser confirmado e melhor compreendido após a descoberta dos receptores de HT (TR), com as isoformas α e β , dos genes que os codificam, e de seu padrão de expressão^[3,4].

Atualmente, o critério diagnóstico para RHT β é a presença de T4 elevado sem supressão de TSH (este podendo estar normal ou elevado), mas o sequenciamento do gene *THRB*, codificador da isoforma TR β , faz-se necessário para excluir as hipóteses de adenoma hipofisário secretor de TSH e hipertiroxinemia disalbuminêmica familiar, que podem levar ao mesmo perfil bioquímico^[5]. Quase todos os pacientes com RHT β genotipados até hoje apresentam mutações de substituições de base, pequenas deleções ou inserções, que ocorrem em

heterozigose, afetando apenas o domínio de ligação a T3 (*ligand binding domain*, LBD) do TR β ^[6].

Em geral, indivíduos com RHT β podem apresentar sintomas comumente associados a hipertireoidismo, nos órgãos que expressam predominantemente o TR α e, portanto, preservam a sensibilidade a HT, e sintomas associados a hipotireoidismo nos órgãos com predominância de TR β , com sensibilidade reduzida a HT em decorrência da mutação. No entanto, os sintomas são majoritariamente leves, e mutações podem se manifestar diferentemente entre indivíduos, sugerindo que outros determinantes genéticos influenciem o grau de compensação a níveis alterados de HT^[6,7]. Casos severos foram relatados, mas geralmente ligados a homozigose ou hemizigose^[8-10]. Em outros casos com sintomas relativamente severos, acredita-se que a RHT afete mais a regulação da secreção de TSH do que a ação periférica do T3, ao que a literatura se refere como RHT hipofisária. Como consequência, a secreção anormalmente alta de HT não é compensada pela sensibilidade tecidual reduzida, causando sintomas de hipertireoidismo^[11].

O maior esforço realizado até hoje no sentido de caracterizar a síndrome foi o estudo de coorte realizado em 1995 pelo National Institutes of Health (NIH), dos EUA, em que indivíduos normais e afetados de 42 famílias foram avaliados em relação a achados clínicos previamente relatados. As marcas mais proeminentes da RHT β , segundo esse estudo, foram bócio, surdez e mutismo parciais, infecções frequentes do ouvido e vias aéreas superiores, atraso na idade óssea, afetando crianças, e transtorno de déficit de atenção com hiperatividade (TDAH)^[12].

Recentemente, foi relatada uma nova mutação, substituindo o aminoácido leucina por valina no códon 341 (L341V), em uma paciente tailandesa de 12 anos que havia sido erroneamente diagnosticada com doença de Graves. A suspeita de RHT β deu-se pela ineficácia do tratamento medicamentoso na paciente índice e cirúrgico na mãe, com níveis de TSH persistentemente elevados^[13].

Neste estudo, avaliamos clinicamente uma família não relacionada à família tailandesa, com sete membros afetados pela mesma mutação, L341V. O paciente índice apresentou teste do pezinho alterado; na comprovação diagnóstica, foram observados TSH (11 μ UI/mL; normal, 0,35-4,95) e T4 livre (T4L; 4,2ng/dL; normal,

0,7-1,8) elevados, levando à suspeita de RHT β , que foi confirmada por sequenciamento do gene *THRB*. A irmã mais nova do paciente foi avaliada por endocrinologista pediátrico aos 11 meses por apresentar alterações em exames de rotina, com TSH (4,52 μ UI/mL; normal, 0,30-4,0), T4L (3,39ng/dL; normal, <1,5) e T3 total (T3T; 348ng/dL; normal, <269) elevados.

Pacientes e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (CAAE 12235619.0.0000.5411); as pacientes maiores de idade assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), assim como os termos de assentimento para os menores. Em todos os pacientes, foi verificada a função tireoidiana dosando T4L e TSH em sangue periférico pelo método de quimioluminescência, em pelo menos duas ocasiões antes do diagnóstico. Também foram realizados ultrassonografia de tireoide, hemograma, perfil lipídico, enzimas hepáticas, glicemia em jejum, creatinina e, nas crianças, radiografia para determinação da idade óssea.

Para extração de DNA, raspagens da mucosa oral foram coletadas com *swab* estéril, que foi em seguida aquecido a 95°C por 10min para lise em 600 μ L de NaOH a 50mM, em seguida neutralizando com solução de Tris base a 1M, pH 8,0. Os éxons codificantes do domínio de ligação ao T3 do gene *THRB* foram amplificados por PCR usando os primers indicados na **Tabela 1** (concentração final 200nM) e a enzima Taq Platinum (Thermo Fisher), conforme recomendações do fabricante (tampão 1x, 1,5 μ M de MgCl₂, 200nM de cada dNTP, 2min a 94°C/40x(30s a 94°C/30s a 60°C/1min a 72°C/10min a 72°C).

Tabela 1. Sequências dos primers usados para amplificação dos éxons codificantes do domínio de ligação a T3 (LBD) do *THRB*, com base na sequência NG_009159.1 do GenBank. A temperatura de hibridização foi de 60°C para todos.

Éxon	Sequência F	Sequência R
8	GTCTCATCTTTCTCCCCCTC	ACTCCCTCATTCCCATTGCC
9	TGCAGCAACAGTCCTGTAAAC	ATGGGCCTTACACGGACAAG
10	AGTCTGCAGCCAAGTAGGGA	GGGACACTGC AAAAAGCATCA
11	TGGACAAAGCAAGCCTTCCC	TCACAGGACCGGAGAACGAA

Os produtos de PCR foram purificados de excesso de primers usando exonuclease I e fosfatase alcalina (GE; respectivamente 0,7 UI e 1 UI/10µL de PCR), com incubação a 37°C por 2h e desnaturação das enzimas a 85°C por 15min. Usando os mesmos primers, as reações de sequenciamento foram realizadas usando o reagente BigDye Terminator v3.1 (Thermo Fisher), conforme as recomendações do fabricante, sendo sequenciadas ambas as fitas de cada éxon. Após a precipitação das reações, os produtos foram dissolvidos em formamida e analisados no equipamento 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher). Os resultados foram observados usando o *software* Chromas 2.5.0.

Resultados

O paciente índice, III-5, que foi diagnosticado com base no TSH elevado no teste do pezinho, não apresentou queixas sugestivas de hipertireoidismo, bócio ou atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (DNPM), embora tenha sido registrado atraso na idade óssea, inferido entre 4 e 5 anos de idade (idade óssea = 3 anos; > 2,7 desvios padrão). A principal queixa foi, consistentemente, uma hiperatividade com impacto no desempenho escolar, atrasando a alfabetização e o aprendizado de matemática em relação aos colegas.

A irmã mais nova, III-6, segundo o relato da mãe, também apresentou alteração no teste do pezinho, com TSH elevado, e chegou a ser tratada com levotiroxina (25µg/dia) no primeiro ano de vida, sem redução do TSH. Como o irmão,

não apresentou bócio, atraso no DNPM ou sintomas sugestivos de tireotoxicose, e apresentou atraso na idade óssea aos 7 anos (idade calculada = 5a9m).

A ocorrência de alterações tireoideas nos dois irmãos levantou a suspeita de RHT β e foi realizado o sequenciamento do *THRB*, tendo sido encontrada a substituição nucleotídica CTG \rightarrow GTG no penúltimo éxon, levando à substituição de leucina por valina na posição 341 da sequência polipeptídica (L341V). A partir da confirmação da mutação no *THRB* de ambos, os demais membros da família foram avaliados clínica e laboratorialmente. O sequenciamento revelou que a mutação presente nas duas crianças foi herdada da mãe, também afetando a irmã desta e dois dos seus filhos, como mostrado no heredograma da **Figura 1**.

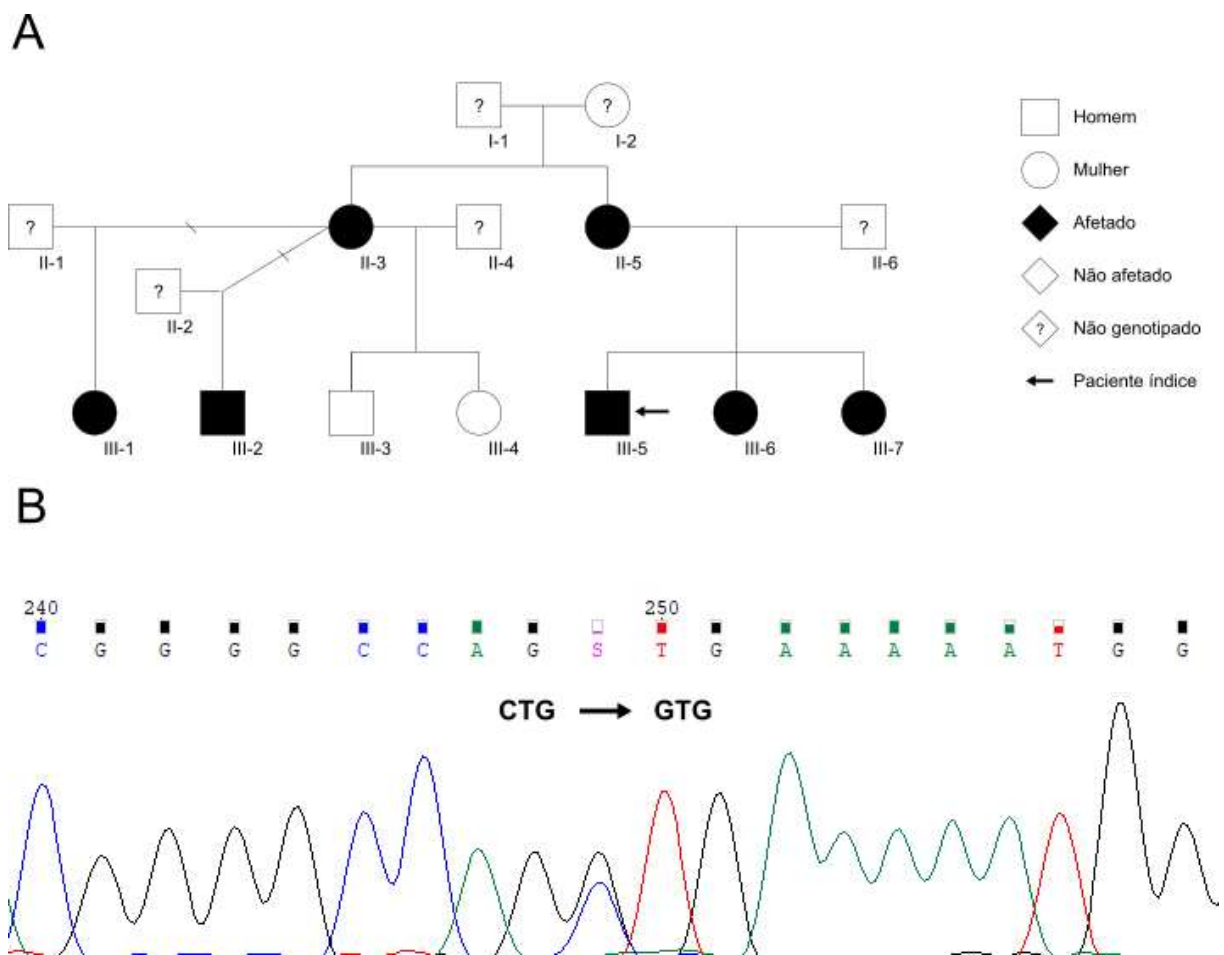


Figura 1. A) Heredograma da família estudada. B) Eletroferograma representativo mostrando a substituição de CTG por GTG, em heterozigose, no códon 341 determinada por sequenciamento Sanger.

Consultas ulteriores revelaram que os primos afetados do paciente índice, os pacientes III-1 e III-2, também relatam dificuldades de aprendizagem, com queixa de hiperatividade. Os exames laboratoriais confirmaram a presença de T4 elevado com TSH não suprimido nos pacientes portadores da mutação, alguns deles com TSH elevado, além de ter sido detectado atraso na idade óssea também na paciente III-7, outra irmã do paciente índice, que nasceu posteriormente. Alguns dos familiares afetados apresentaram elevação no colesterol LDL. Curiosamente, alguns dos membros da família, todos afetados, apresentaram valores ligeiramente baixos de glicose em jejum (**Tabela 2**). A ultrassonografia de tireoide, hemograma e enzimas hepáticas não mostraram alterações (não mostrado).

Tabela 2. Resultados laboratoriais dos membros da família estudada, com valores fora do intervalo de referência em negrito. * Paciente índice.

Paciente	Idade	TSH (μ UI/mL)	T4L (ng/dL)	Idade óssea (anos)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Glicose em jejum (mg/dL)
II-5	28a11 m	8,12 (0,30-4,00)	2,03 (0,61-1,24)	-	36 (>40)	147 (<130)	64,6 (70-99)
III-5*	11a1m	11 (0,35-4,95)	4,2 (0,7-1,8)	11	31 (>45)	58 (<130)	76,5 (70-99)
III-6	7a7m	7,91 (0,35-4,95)	2,78 (0,7-1,8)	5,75	37 (>45)	113 (<130)	64,7 (70-99)
III-7	2a6m	5,37 (0,35-4,95)	4,3 (0,7-1,8)	1,5	-	-	45,6 (70-99)
II-3	26a6m	1,5 (0,3-4)	2,28 (0,61-1,24)	-	-	-	-
III-1	9a10m	1,74 (0,6-5,4)	2,56 (0,61-1,24)	-	-	-	-
III-2	7a5m	3,35 (0,6-5,4)	2,34 (0,6-1,24)	-	-	-	-

Discussão

O teste do pezinho, também conhecido como triagem neonatal, é uma ferramenta crucial para o diagnóstico precoce de várias doenças congênitas. Esta síndrome é uma condição genética rara caracterizada pela resistência dos tecidos-alvo à ação dos hormônios tireoidianos, resultando em níveis elevados de hormônio tireoestimulante (TSH) e hormônios tireoidianos (T3 e T4) no sangue^[14]. A identificação de níveis anormais de TSH e hormônios tireoidianos no teste do pezinho pode ser o primeiro indicador da presença de RHT, permitindo a confirmação diagnóstica subsequente por meio de testes genéticos e avaliações clínicas detalhadas^[5].

No caso descrito, a descoberta da síndrome de resistência ao hormônio tireoidiano por meio da triagem neonatal possibilitou o diagnóstico familiar, uma vez que os pacientes não apresentaram bócio, uma característica frequentemente observada, mas não universal, na síndrome^[15]. Estudos indicam que aproximadamente 66–95% dos indivíduos com a síndrome desenvolvem bócio, devido à hiperplasia compensatória da glândula tireoide em resposta à resistência dos tecidos aos hormônios tireoidianos^[16]. O fato de que pacientes comumente desenvolvem bócio na presença de níveis normais de TSH é atribuído a uma maior atividade biológica deste hormônio^[17]. No entanto, os membros da família estudada não apresentam aumento da tireoide, embora a paciente II-5 e todos os seus filhos tenham TSH elevado. Este fato sugere que outros mecanismos podem estar envolvidos na hiperplasia da tireoide além da sinalização por TSH.

Os exames laboratoriais, além de confirmarem manifestações conhecidas da RHT β como LDL elevado^[18] e atraso na idade óssea^[12], forneceram também um achado atípico para a síndrome, pois parte dos membros da família apresentou ligeira hipoglicemia em jejum, especialmente baixa na paciente III-7, que tinha a idade de 2,5 anos à época do exame. Um estudo recente em indivíduos com RHT β , portadores de diferentes mutações, havia evidenciado glicemia em jejum acima do normal em 9 dos 71 participantes, mas não encontrou hipoglicemia^[18]. Sabe-se que o hipotireoidismo está associado a resistência à insulina^[19], mas na RHT β a relação

entre o nível sistêmico de HT e a sensibilidade tecidual à insulina pode ser mais complexa. No músculo esquelético, grande alvo da ação da insulina, o HT acentua o transporte de glicose, tanto basal quanto estimulado por insulina^[20]. No fígado, porém, a insulina possui a função de reprimir a produção de glicose via glicogenólise e gliconeogênese^[21,22], evitando um aporte excessivo de glicose à circulação. Este efeito da insulina é inibido pelo HT, permitindo que a demanda sistêmica por glicose seja compensada pela produção hepática^[23]. No entanto, devido à predominância de TR β no fígado e TR α no músculo estriado^[24], estes tecidos tendem a apresentar sinais de hipo e hipertireoidismo, respectivamente^[6], na RHT β . Dado que, durante longos períodos de jejum, como durante o sono, o fígado possui um papel importante na manutenção da glicemia normal^[25], é possível que os pacientes aqui estudados tenham experimentado episódios de hipoglicemia por conta de uma demanda sistêmica elevada não compensada pela produção hepática de glicose, um mecanismo ainda não descrito na literatura. Embora episódios de hipoglicemia possam estar relacionados a outras causas, como períodos de jejum inadequados antes da coleta de sangue para os exames, os pacientes relatam terem se alimentado adequadamente e praticado o intervalo correto de jejum. Estes resultados instigam estudos futuros a investigarem esta ocorrência e seus possíveis impactos na qualidade de vida de pacientes portadores de outras mutações no *THRB*.

Conclusão

Este estudo mostrou a necessidade de investigar a fundo a elevação do TSH encontrada no teste do pezinho na ausência de hipotireoidismo, com dosagem de T4 e sequenciamento do *THRB*. O acompanhamento de uma família com sete indivíduos portadores da mutação L341V adicionou robustez à caracterização da mutação, além de ter acrescentado novos *insights* à variabilidade fenotípica da síndrome, com a inesperada ausência de bócio com níveis elevados de TSH e a hipoglicemia leve que poderia estar associada a um mecanismo ainda não descrito na RHT.

Referências

1. Refetoff, S.; Bassett, J.H.D.; Beck-Peccoz, P.; Bernal, J.; et al. Classification and proposed nomenclature for inherited defects of thyroid hormone action, cell transport, and metabolism. *Thyroid* 24(3), 2014. <https://doi.org/10.1089/thy.2013.3393.nomen>
2. Refetoff, S.; DeWind, L.T.; DeGroot, L.J. Familial syndrome combining deaf-mutism, stippled epiphyses, goiter and abnormally high PBI: possible target organ refractoriness to thyroid hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 27(2):279-294, 1967. <https://doi.org/10.1210/jcem-27-2-279>
3. Spurr, N.K.; Solomon, E.; Jansson, M.; Sheer, D.; Goodfellow, P.N.; Bodmer, W.F.; Vennström, B. Chromosomal localization of the human homologues to the oncogenes *erbA* and *B*. *The EMBO Journal* 3(1):159 -163, 1984. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1984.tb01777.x>
4. Weinberger, C.; Thompson, C.C.; Ong, E.S.; Lebo, R.; Gruol, D.J.; Evans, R.M. The *c-erb-A* gene encodes a thyroid hormone receptor. *Nature* 324:641-646, 1986. <https://doi.org/10.1038/324641a0>
5. Ramos, L.S.; Kizys, M.M.L.; Kunii, I.S.; Spinola-Castro, A.M.; et al. Assessing the clinical and molecular diagnosis of inherited forms of impaired sensitivity to thyroid hormone from a single tertiary center. *Endocrine* 62:628–638, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1673-6>
6. Dumitrescu, A.M.; Refetoff, S. The syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830:3987-4003, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.08.005>
7. Beck-Peccoz, P.; Chatterjee, K.K. The Variable Clinical Phenotype in Thyroid Hormone Resistance Syndrome. *Thyroid* 4(2):225-232, 1994. <https://doi.org/10.1089/thy.1994.4.225>
8. Ono, S.; Schwartz, D.; Mueller, T.; Root, A.W.; Usala, S.J.; Bercu, B.B. Homozygosity for a dominant negative thyroid hormone receptor gene responsible for generalized resistance to thyroid hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 73(5)990–994, 1991. <https://doi.org/10.1210/jcem-73-5-990>

9. Frank-Raue, K.; Lorenz, A.; Haag, C.; Höppner, W. Severe form of thyroid hormone resistance in a patient with homozygous/hemizygous mutation of T3 receptor gene. *European Journal of Endocrinology* 150 819–823, 2004. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1500819>
10. Ferrara, A.M.; Onigata, K.; Ercan, O.; Woodhead, H.; Weiss, R.E.; Refetoff, S. Homozygous thyroid hormone receptor β -gene mutations in resistance to thyroid hormone: three new cases and review of the literature. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97(4):1328–1336, 2012. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2642>
11. Suzuki, S.; Shigematsu, S.; Inaba, H.; Takei, M.; Takeda, T.; Komatsu, M. Pituitary resistance to thyroid hormones: pathophysiology and therapeutic options. *Endocrine* 40:366-371, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9538-2>
12. Brucker-Davis, F.; Skarulis, M.C.; Grace, M.B.; Benichou, J.; et al. Genetic and clinical features of 42 kindreds with resistance to thyroid hormone - The National Institutes of Health Prospective Study. *Annals of Internal Medicine* 123 (8):572-583, 1995. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-123-8-199510150-00002>
13. Wejaphikul, K.; Groeneweg, S.; Dejkhamron, P.; Unachak, K.; et al. Role of leucine 341 in thyroid hormone receptor beta revealed by a novel mutation causing thyroid hormone resistance. *Thyroid* 28(12), 2018. <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0146>
14. Leonardi, D.; Polizzotti, N.; Carta, A.; Gelsomino, R.; et al. Longitudinal study of thyroid function in children with mild hyperthyrotropinemia at neonatal screening for congenital hypothyroidism. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-2612>
15. Beck-Peccoz, P.; Chatterjee, V.K.K. The variable clinical phenotype in thyroid hormone resistance syndrome. *Thyroid* 4(2):225-232, 1994. <https://doi.org/10.1089/thy.1994.4.225>
16. Weiss, R.E.; Dumitrescu, A.; Refetoff, S. Approach to the patient with resistance to thyroid hormone and pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 95(7):3094-3102, 2010. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0409>
17. Persani, L.; Asteria, C.; Tonacchera, M.; Vitti, P.; et al. Evidence for the secretion of thyrotropin with enhanced bioactivity in syndromes of thyroid hormone

- resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 78(5):1034–1039, 1994. <https://doi.org/10.1210/jcem.78.5.8175956>
18. Moran, C.; McEniery, C.M.; Schoenmakers, N.; Mitchell, C.; et al. Dyslipidemia, insulin resistance, ectopic lipid accumulation, and vascular function in resistance to thyroid hormone β . *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 106(5):e2005–e2014, 2021. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab002>
19. Maratou, E.; Hadjidakis, D.J.; Kollias, A.; Tsegka, K.; et al. Studies of insulin resistance in patients with clinical and subclinical hypothyroidism. *European Journal of Endocrinology* 160(5):785-790, 2009. <https://doi.org/10.1530/EJE-08-0797>
20. Weinstein, S.P.; O'Boyle, E.; Haber, R.S. Thyroid hormone increases basal and insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle: the role of GLUT4 glucose transporter expression. *Diabetes* 43(10):1185-1189, 1994. <https://doi.org/10.2337/diab.43.10.1185>
21. Brenta, G.; Why can insulin resistance be a natural consequence of thyroid dysfunction? *Journal of Thyroid Research* 2011(1):152850, 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/152850>
22. Hatting, M.; Tavares, C.D.J.; Sharabi, K.; Rines, A.K.; Puigserver, P. Insulin regulation of gluconeogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1411(1):21-35, 2018. <https://doi.org/10.1111/nyas.13435>
23. Ritter, M.J.; Amano, I.; Hollenberg, A.N. Thyroid hormone signaling and the liver. *Hepatology* 72(2):742-752, 2020. <https://doi.org/10.1002/hep.31296>
24. Minahkina, S.; Bansal, S.; Zhang, A.; Brotherton, M.; et al. A direct comparison of thyroid hormone receptor protein levels in mice provides unexpected insights into thyroid hormone action. *Thyroid* 30(8):1193–1204, 2020. <https://doi.org/10.1089/thy.2019.0763>
25. Laposky, A.D.; Bass, J.; Kohsaka, A.; Turek, F.W. Sleep and circadian rhythms: Key components in the regulation of energy metabolism. *FEBS Letters* 582(1):142-151, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.06.079>

4. Anexo

4.1. Métodos suplementares – Extração de DNA de raspagem bucal

1. Usando luvas, retirar um swab da embalagem, com cuidado para não tocar perto da ponta.
2. Esfregar bem no lado interno das duas bochechas e guarda-lo de volta na embalagem.
3. Preparar um eppendorf de 1,5 ou 2 mL com 600 μ L de NaOH 50mM recém-preparado (manter estoque a 1M).
4. Cortar a ponta do swab, deixando que ela caia dentro do eppendorf, tomando providências para evitar contaminação entre amostras.
5. Vortexar muito bem e aquecer a 95oC por 10min.
6. Acrescentar 120 μ L de Tris 1M, pH 8,0 e vortexar bem.

4.2. Métodos suplementares – Reação em cadeia da polimerase (PCR)

1. Preparar o mix de reagentes:
 - Água ultrapura – 7,1 μ L
 - Tampão 10x – 1 μ L
 - MgCl₂ 50 μ M – 0,3 μ L
 - dNTP 10mM (cada) – 0,2 μ L
 - Primer F – 0,2 μ L
 - Primer R – 0,2 μ L
2. Em cada tubo de 0,2mL de parede fina, pipetar 9 μ L do mix, deixando um tubo para o controle negativo.
3. Em cada reação, pipetar 1 μ L de DNA (100ng), e pipetar 1 μ L de água ultrapura no controle negativo.
4. No termociclador, executar o programa de PCR:

2min a 95°C

40 ciclos de:

30s a 95°C

1min a 60°C

1min a 72°C

10min a 72°C

4°C indefinidamente

5. Correr as reações em gel de agarose a 1%, corado com SYBR safe 1x, por 20min a 60C, com marcador de peso molecular de 100pb para visualizar as bandas.

4.3. Métodos suplementares – Purificação das PCRs

1. Para cada 10µL de produto de PCR, acrescentar 0,8µL da mistura:
1 parte de shrimp alkaline phosphatase (SAP; 1 unidade/µL)
0,15 parte de Exonuclease I (Exo-I; 10 unidades/µL)
(Obs.: 1 unidade de SAP/ 1,5 unidade de Exo-I)
2. Incubar em termociclador por 2h a 37oC (digestão) e 30min a 85oC (desnaturação da enzima)

4.4. Métodos suplementares – Sequenciamento Sanger

1. Geração de fragmentos marcados para sequenciamento
 - 1.1. Preparar a mistura de reação (multiplicar os volumes pelo número de amostras, mais 10%)
BigDye Ready Reaction – 0,5µL
Tampão 5× - 1,75µL
Água milli-Q – 4,75µL
 - 1.2. Para cada reação, adicionar 7µL da mistura

- 1.3. Para cada reação, adicionar 3 μ L da mistura de amostra e primer (amostra + primer a 5 μ M, na proporção 2:1)
- 1.4. Centrifugar por alguns segundos para trazer os reagentes para o fundo
- 1.5. Tampar a placa e realizar a reação no termociclador, usando o programa:
 - 2min a 96°C
 - 40 ciclos de:
 - 15s a 96°C
 - 1°C/s até 50°C
 - 15s a 50°C
 - 4min a 60°C

2. Precipitação das reações e corrida

- 2.1. Preparar a solução de precipitação (multiplicar os volumes pelo número de amostras, mais 10%)
 - etanol - 50 μ L
 - EDTA 125mM - 2 μ L
 - acetato de sódio - 2 μ L
- 2.2. A cada amostra, adicionar 54 μ L da solução de precipitação
- 2.3. Deixar à temperatura ambiente por 15min; refrigerar a centrífuga a 4°C
- 2.4. Centrifugar por 30min a 3.000 g
- 2.5. Descartar o sobrenadante e centrifugar a placa invertida por 1min a 150 g com papel para absorver o resto de líquido (reduzir o freio para evitar perder o DNA)
- 2.6. Adicionar 70 μ L de etanol 70% a cada amostra
- 2.7. Centrifugar por 15min a 2.000 g
- 2.8. Repetir o passo 5

- 2.9. Secar a placa aberta no termociclador por 4min a 90°C; tirar a formamida Hi-Di do freezer
- 2.10. Adicionar 10µL de formamida em cada amostra; cada coluna da placa a ser sequenciada tem que estar completa com formamida, mesmo nos poços sem amostras
- 2.11. Desnaturar com a placa tampada no termociclador a 95°C por 3min; deixar preparado um isopor com gelo
- 2.12. Imediatamente ao completar 3min, retirar a placa do termociclador e coloca-la no gelo (manter por pelo menos 2min)
- 2.13. Centrifugar por alguns segundos para trazer a formamida para o fundo dos poços
- 2.14. Tampar a placa com a tampa apropriada (com furos) e iniciar a corrida (até 48h após a desnaturação)

4.5. Resultados suplementares

As curvas de crescimentos dos pacientes III-5, III-6 e III-7 mostram um atraso na idade óssea que parece se acentuar após os 2 anos, como mostram as **Tabelas 1 a 3**; é possível notar que a idade óssea o paciente índice, III-5, se normalizou a partir dos 11 anos. Quanto ao nível de TSH, todos apresentaram oscilações, mas parece haver uma tendência à normalização ainda nos primeiros anos da infância (**Figuras 3 a 5**).

Tabela 1. Histórico de crescimento do paciente III-5.

Idade	Peso (g)	Estatura (cm)	FC	Idade óssea
8m	8705	71	130	-
12m	9850	77	140	-
13m	10105	-	120	-
1a4m	11000	80	120	-
1a8m	11415	85	110	1a6m
2a1m	12600	86	110	-
2a5m	12950	89,1	120	-
2a8m	13950	91,6	110	-
3a	14600	93	100	2a8m
3a2m	16950	102	-	-
4a6m	17800	103,8	100	3a
5a1m	19000	108	104	-
5a4m	18350	110	104	3a
5a7m	19100	110,7	100	-
6 a	21150	112,8	104	3a
11a	38650	147	90	11a
11a4m	40100	149,6	76	-
11a8m	40550	153	76	-
13a2m	47050	160	68	-

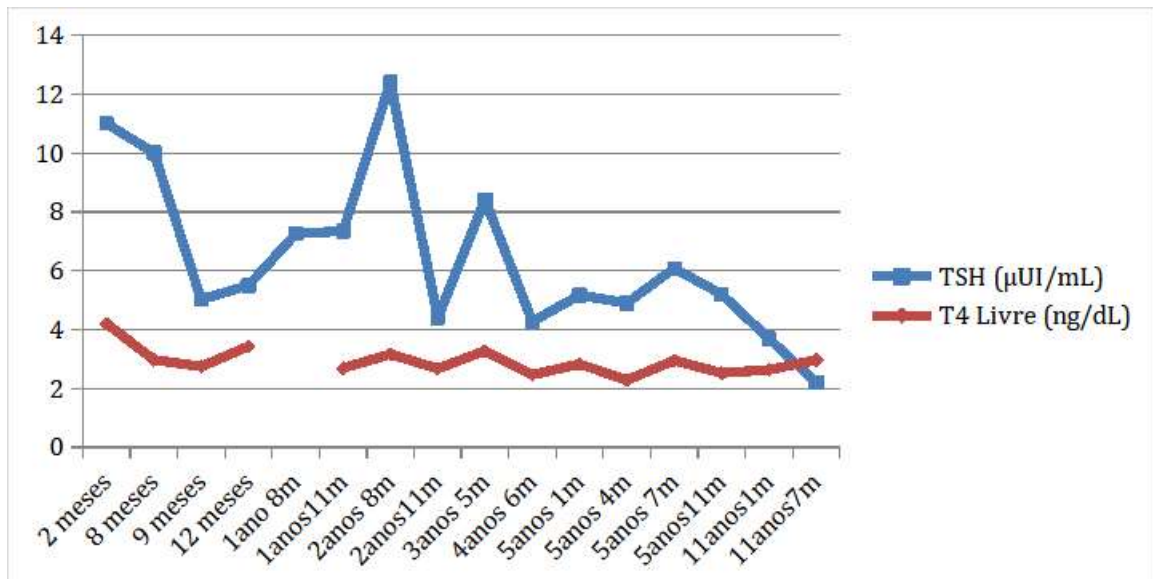


Figura 3. Função tireoidiana do paciente III-5. Valores de referência: TSH, 0,8-6,3 μUI/mL; T4L, 0,7-1,8ng/dL.

Tabela 2. Histórico de crescimento da paciente III-6.

Idade	Peso(g)	Estatura (cm)	Idade óssea
11m	8765	71	-
1a2m	8800	73	-
1a4m	8800	75,5	-
1a9m	10200	77	-
2a2m	11600	84	-
2a6m	12300	84,9	-
2a9m	12950	86,9	-
3a2m	14000	90	-
7a7m	25650	121,2	5a8m
7a10m	26750	122,5	-
8a3m	27800	124,2	-
9a8m	33300	133,5	-

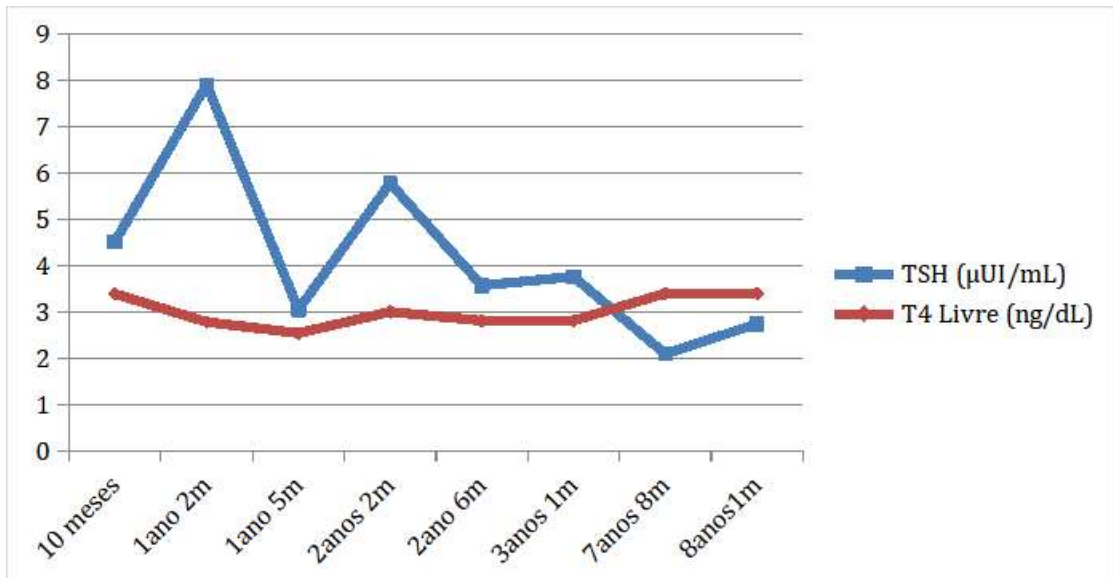


Figura 4. Função tireoidiana da paciente III-6. Valores de referência: TSH, 0,8-6,3 $\mu\text{UI/mL}$; T4L, 0,7-1,8ng/dL.

Tabela 3. Histórico de crescimento da paciente III-7.

Idade	Peso(g)	Estatura (cm)	Idade óssea
2a5m	10450	88	-
2a9m	11800	89,9	2a
3ano1m	12400	92,6	-
4ano7m	15500	103,1	-

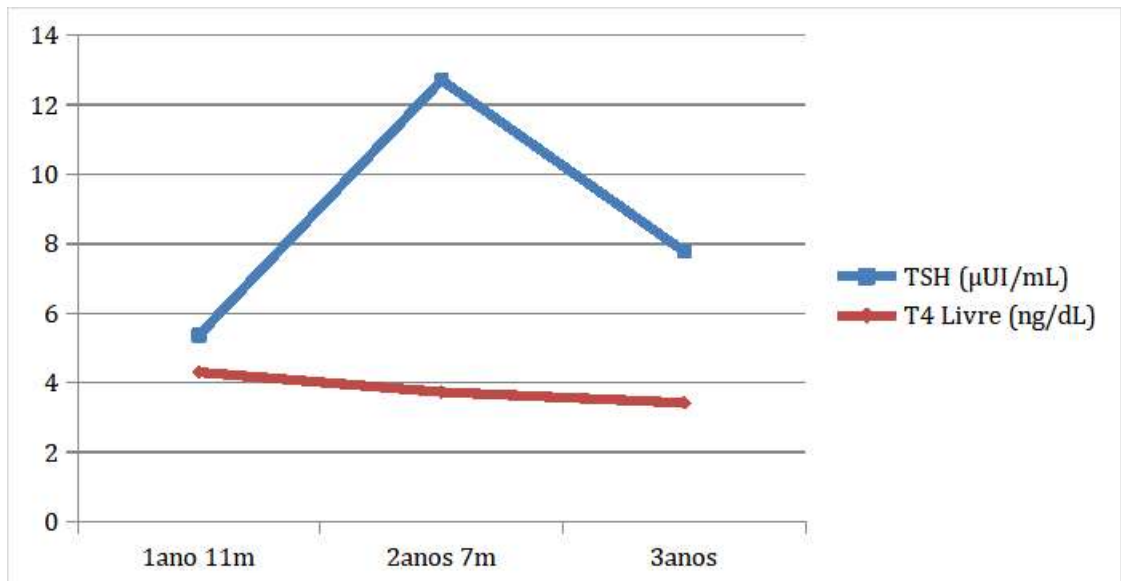


Figura 5. Função tireoidiana da paciente III-7. Valores de referência: TSH, 0,8-6,3 $\mu\text{UI/mL}$; T4L, 0,7-1,8ng/dL.