



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA**

FRANCINE LUIZA SEGANFREDO

**RESISTÊNCIA AO HORMÔNIO TIREOIDIANO BETA (RHT β):
ANÁLISE MOLECULAR E CORRELAÇÃO FENÓTIPO/GENÓTIPO
DE UMA FAMÍLIA BRASILEIRA**

BELO HORIZONTE

2022

Francine Luiza Seganfredo

RESISTÊNCIA AO HORMÔNIO TIREOIDIANO BETA (RHT β):
ANÁLISE MOLECULAR E CORRELAÇÃO FENÓTIPO/GENÓTIPO DE UMA FAMÍLIA
BRASILEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Molecular.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Marta Sarquis Soares.

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciana Bastos Rodrigues.

Belo Horizonte

2022

SE454r Seganfredo, Francine Luiza.
Resistência ao Hormônio Tireoidiano Beta (RHT β) [recursos eletrônicos]: análise molecular e correlação fenótipo/genótipo de uma família brasileira. / Francine Luiza Seganfredo. - - Belo Horizonte: 2022.
75f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Maria Marta Sarquis Soares.
Coorientador (a): Luciana Bastos Rodrigues.
Área de concentração: Medicina Molecular.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hormônios Tireóideos. 2. Receptores Citoplasmáticos e Nucleares. 3. Síndrome da Resistência aos Hormônios Tireóideos. 4. Dissertação Acadêmica. I. Soares, Maria Marta Sarquis. II. Rodrigues, Luciana Bastos. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WK 202



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR

FOLHA DE APROVAÇÃO

RESISTÊNCIA AO HORMÔNIO TIREOIDIANO BETA (RHT β): ANÁLISE CLÍNICO-MOLECULAR DE UMA FAMÍLIA MINEIRA

FRANCINE LUIZA SEGANFREDO

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia vinte e oito de setembro de dois mil vinte e dois, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores doutores:

Maria Marta Sarquis Soares - Orientador
UFMG

Luciana Bastos Rodrigues - Coorientadora
UFMG

Marcio Weissheimer Lauria
UFMG

Beatriz Santana Soares Rocha
UFMG

Belo Horizonte, 28 de setembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Marta Sarquis Soares, Professora do Magistério Superior**, em 30/09/2022, às 12:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Bastos Rodrigues, Professora do Magistério Superior**, em 30/09/2022, às 13:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Beatriz Santana Soares Rocha, Membro de comissão**, em 03/10/2022, às 12:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcio Weissheimer Lauria, Subchefe de departamento**, em 11/10/2022, às 10:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1779520** e o código CRC **B11A09C0**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus. Obrigada por me suportar neste grande desafio, e pelas inúmeras bênçãos a mim concedidas ao longo da minha vida.

Aos meus queridos pacientes que entenderam a importância deste estudo. Obrigada por doarem mais do que o seu tempo para a realização deste trabalho.

Trilhar este caminho só foi possível com o apoio de várias pessoas a quem dedico especialmente este projeto de vida.

Aos meus pais, Ivone e Ginésio, e aos meus irmãos, Gian Carlo e Ana Luiza, que muito me apoiaram, motivando-me a seguir em frente apesar de todos os obstáculos encontrados no caminho.

Ao meu marido, Guilherme, agradeço o apoio inexprimível e o amor. Obrigada por entender a minha ausência e minha ansiedade tantas vezes.

À minha brilhante orientadora, Maria Marta Sarquis Soares, grande exemplo de Mestre, que me ensinou muito além da medicina. Pessoa admirável e inspiração de médica, cientista e ser humano.

À minha querida coorientadora, Luciana Bastos Rodrigues. Obrigada por seus conselhos e por compartilhar seu vasto conhecimento.

Ao Prof. Luiz Armando, agradeço a oportunidade concedida e as ricas discussões que muito engrandeceram minha formação como Mestre.

Aos Professores, Dr. Gustavo Penna, Dr. Márcio Lauria e Dra. Célia Nogueira, agradeço o auxílio e esforço para que este trabalho acontecesse.

À minha amiga e colega, Dra. Fernanda Froes, agradeço a disponibilidade na coleta do material para estudo e as palavras de apoio ao longo desses dois anos.

Agradeço a todos os colegas do laboratório de Medicina Molecular o apoio como equipe. Em especial, às admiráveis *Anna Luiza*, *Bianca* e *Mariana*, agradeço a dedicação, paciência e auxílio. Obrigada por dedicarem tanto tempo para que este projeto fosse concretizado.

Agradeço a toda equipe de Endocrinologia e Metabologia do Hospital Felício Rocho. Obrigada pelas discussões e críticas que auxiliaram na construção deste trabalho. Tenho grande carinho e admiração por todos.

Agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) o apoio financeiro para esta pesquisa.

"Você nunca fará nada neste mundo sem coragem. É a melhor qualidade da mente ao lado da honra".

Aristóteles

RESUMO

A Síndrome de Resistência ao Hormônio Tireoidiano (SRHT) caracteriza-se pela redução da responsividade dos órgãos-alvos aos hormônios tireoidianos, sendo descrita pela primeira vez em 1967 por Refetoff, no relato de dois irmãos com quadro de bócio, idade óssea atrasada e surdo-mudez, cujos níveis elevados de T4 circulante contrastavam com os dados clínicos, mesmo apresentando sintomas de hipotireoidismo. Em 1988, a base molecular da resistência ao hormônio tireoidiano (RHT) foi associada a alterações no receptor β do hormônio tireoidiano. Neste trabalho estuda-se um indivíduo de 13 anos de idade, com concentrações plasmáticas elevadas de T4 e T3 livres, associadas a TSH não suprimido, clinicamente taquicárdico e diagnosticado com Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). Para entender melhor as bases moleculares da Resistência ao Hormônio Tireoidiano Beta (RHT β), analisam-se as variantes no gene *THRB*, por meio do sequenciamento de Sanger. Além disso, realiza-se avaliação de pontuação patogênica das variantes encontradas pelos critérios das diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG). Os éxons 8 a 11 do gene *THRB* desse paciente são sequenciados. Como resultado, foram encontradas duas variantes, sendo a variante R383C (*rs1559388949*), localizada no éxon 11, classificada como patogênica, e a variante intrônica *rs13063628*, como benigna. Posteriormente, foi realizada a mesma análise do éxon 11 do gene *THRB* dos familiares desse paciente. Ao todo, 12 indivíduos tiveram o DNA sequenciado. Desses, sete apresentaram fenótipo laboratorial e genótipo para a RHT β , dois apresentaram apenas o genótipo e três não apresentaram o fenótipo nem genótipo para a resistência. Dentre os nove indivíduos afetados, quatro apresentaram sintomas, sendo um, o probando, diagnosticado com TDAH; e outros três em investigação para esse transtorno. Em conclusão, na família analisada, a variante patogênica encontrada em *THRB* está correlacionada a RHT β . Além disso, verificou-se a associação entre TDAH com a variante patogênica encontrada, porém mais estudos em famílias etnicamente diversas são necessários para melhor definir o papel dessas variantes, assim como a correlação fenótipo/genótipo.

Palavras-chave: Hormônios Tireoidianos; Receptores Citoplasmáticos e Nucleares; Resistência ao Hormônio Tireoidiano; *THRB*.

ABSTRACT

The Resistance to Thyroid Hormone (RTH) syndrome is characterized by the reduced responsiveness of the target organs to the thyroid hormones, it was first described in 1967, by Refetoff, who reported two brothers that presented goiter, delayed bone age, speech and hearing impairment and even with symptoms of hypothyroidism, high levels of circulating T4 contrasting with the clinical data. In 1988, the molecular basis of resistance to thyroid hormone (RTH) was associated to changes in the receptor β of the thyroid hormone. In this work, we studied a 13-year-old individual with elevated plasma concentrations of free T4 and T3, associated with non-suppressed TSH, clinically tachycardic and diagnosed with attention deficit disorder (ADHD). Exons 8 to 11 of this patient's *THRB* gene were sequenced. To better understand the molecular basis of Resistance to Thyroid Hormone beta (for RHT β), we analyzed the variants in the *THRB* gene, using Sanger sequencing, and performed the pathogenic scoring evaluation of the variants found using the criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Exons 8 to 11 of this patient's *THRB* gene were sequenced. As a result, we found two variants, the R383C variant (*rs1559388949*), located in exon 11, classified as pathogenic and the intronic variant *rs13063628* as benign. Subsequently, we performed the same analysis of exon 11 of the *THRB* gene in the relatives of this patient. In all, 12 individuals had their DNA sequenced. Of these, seven presented laboratory phenotype and genotype for RHT β , two presented only the genotype and three did not present phenotype or genotype for resistance. Among the nine affected individuals, four presented symptoms, one, the proband, diagnosed with ADHD and the other three under investigation for this disorder. In conclusion, in this family, the pathogenic variant found in *THRB* is correlated with RHT β . In addition, we verified the association between ADHD with the pathogenic variant found, however more studies in ethnically diverse families are needed to better define the role of these variants, as well as the phenotype/genotype correlation.

Keywords: Cytoplasmic and Nuclear Receptors; Thyroid hormone resistance; Thyroid Hormones; *THRB*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Isoformas codificadas pelo gene TRβ	16
Figura 2 - Localização do DBD e dos “dedos de zinco”	17
Figura 3 - Dedos de zinco	18
Figura 4 - Elementos responsivos ao TR	19
Figura 5 - Mecanismo Molecular da Ação dos Receptores dos Hormônios Tireoidianos	20
Figura 6 - Ilustração dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas Síndromes de Sensibilidade Prejudicada ao Hormônio da Tireoide	22
Figura 7 – Gene e <i>Hotspots</i>	24
Figura 8 - Motivos de solicitação de exames para investigação de doenças tireoidianas em pacientes portadores de RTH β	27
Figura 9 - Diagnóstico diferencial de RHTβ	30
Figura 10 - Heredograma Fenotípico	45
Figura 11 - Eletroferograma do éxon 11 evidenciando a mutação (R383C)	46
Figura 12 - Eletroferograma evidenciando alteração intrônica	47
Figura 13 - Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.1 e III.3	48
Figura 14 - Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.3, III.4 e III.5	48
Figura 15 - Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.8 e III.9	49
Figura 16 - Genealogia da família portadora de RTHβ	49
Figura 17 - Efeitos do resíduo alterado na proteína THRB	53
Figura 18 - Modelo da estrutura do sítio ativo de THRB	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Síndromes de Sensibilidade Prejudicada ao Hormônio da Tireoide	23
Tabela 2 - Dose de T3 ajustada pelo peso	28
Tabela 3 - Especificações dos Iniciadores.....	38
Tabela 4 - Exames realizados para diagnóstico diferencial entre RHT β e adenoma hipofisário produtor de TSH	42
Tabela 5 - Dados clínico-laboratoriais dos indivíduos estudados (pais e irmãs)	43
Tabela 6 - Dados clínico-laboratoriais dos indivíduos estudados (primos/tios/avós)	45
Tabela 7 - Variantes encontradas no estudo	50
Tabela 8 - Descrição da classificação das variantes encontradas no probando.....	51
Tabela 9 - Predição <i>in silico</i> das alterações	52

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ACMG –	<i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>
Clinvar –	<i>Clinically relevant variation</i>
D1 –	Desiodase Tipo 1
D2 –	Desiodase Tipo 2
D3 –	Desiodase Tipo 3
DBD –	Domínio de Ligação ao DNA
dbSNP –	<i>Single Nucleotide 46 Polymorphism database</i>
DNA –	Ácido Desoxirribonucleico
DNE –	Efeito dominante negativo
DR4 –	Repetições Diretas da Sequência AGGTCA Espaçadas por Quatro Nucleotídeos
F2 –	Palíndromo Invertido da Sequência AGGTCA
MCT8 –	Gene transportador monocarboxilato 8
NCBI –	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
OATP1C1 –	Polipeptídeo ânion orgânico transportador
PCR –	Reação em Cadeia da Polimerase
RHT –	Resistência ao Hormônio Tireoidiano
RNA –	Ácido Ribonucleico
RNM –	Ressonância Nuclear Magnética
SHBG –	Globulina Ligadora de Esteroides Sexuais
SMRT –	Mediador do Silenciamento do Receptor do Ácido Retinoico e do Receptor do Hormônio Tireoidiano
SRC-1 –	Coativador de Receptores Nucleares 1
TBG –	Globulina de ligação de tiroxina
Tg –	Tireoglobulina
THRB –	Gene do Receptor do Hormônio Tireoidiano Beta
TPO –	Peroxidase tireoidiana
TR –	Receptor do hormônio tireoidiano
TRE –	Elemento Responsivo Tireoidiano
TREpal –	Palíndromo da Sequência AGGTCA
TRH –	Hormônio liberador da tireotrofina

TSH – Hormônio estimulador da tireoide
TTR – Transtirretina
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
UNESP – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Fisiologia tireoidiana	14
1.2 Características dos receptores de hormônio tireoidiano	15
1.3 Mecanismo Molecular de Ação dos Receptores dos Hormônios Tireoidianos.....	19
1.4 Resistência ao Hormônio Tireoidiano	21
1.5 Mecanismo Molecular da RHT: Mutações no Gene <i>THRB</i>.....	23
1.6 Características Clínicas e Laboratoriais da RHTβ.....	25
1.7 Diagnósticos Diferenciais	28
1.8 Tratamento	30
2 OBJETIVOS	34
2.1 Objetivo geral.....	34
2.2 Objetivos específicos	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 Seleção de pacientes	35
3.2 Coleta dos dados clínicos	35
3.3 Coleta do material biológico	35
3.4 Extração de DNA genômico	36
3.5 Quantificação e diluição	36
3.6 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	37
3.7 Eletroforese (gel de acrilamida).....	38
3.8 Purificação do produto de PCR.....	39
3.9 Reação de sequenciamento.....	39
3.9.1 Análise das variantes	39
4 RESULTADOS	41
4.1 Caracterização Clínica, Bioquímica e Imagem	41

4.1.1 Probando.....	41
4.1.2 Membros da família	43
4.2 Estudo e classificação das variantes	49
4.2.1 Probando/Família – ACMG/VarSome	50
4.3 Predição de patogenicidade da proteína <i>THR</i>B e análise <i>in silico</i>	52
4.3.1 Proteína <i>THR</i> B.....	52
5 DISCUSSÃO	55
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE	70
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	70
ANEXO.....	72
ANEXO A - Table 2 <i>THR</i>B variants affecting coding regions and their clinical significance	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fisiologia tireoidiana

A glândula tireoide é um órgão especializado em função endócrina, pesa de 10 a 20 gramas em adultos, está localizada inferiormente à laringe, possui dois lobos unidos pelo istmo e possui um rico suprimento sanguíneo (PANKOW; MICHALAK; MCGEE, 1985). É responsável pela síntese dos hormônios 3,5,3',5'-tetraiodo-L tironina (T4) e 3,5,3'-triiodotironina (T3), essenciais para o desenvolvimento, homeostase, proliferação e diferenciação celular (LAZAR, 1993).

A produção de T4 e T3 pela glândula tireoide é um processo que envolve algumas etapas. Inicialmente é realizada a captação do iodeto pela célula folicular por meio do cotransportador NIS, por transporte ativo. Além disso, ocorre a síntese da tireoglobulina (Tg) no retículo endoplasmático do complexo de Golgi e a incorporação do iodo à molécula de tireoglobulina, mediada pela peroxidase tireoidiana (TPO), com a formação dos precursores MIT e DIT, que são resíduos monoiodinados e diiodinados respectivamente, que, ao se agruparem, formam os hormônios tireoidianos.

Em condições fisiológicas, a principal forma do hormônio tireoidiano produzida e secretada pela glândula tireoide é a tiroxina ou T4. A forma ativa do hormônio, T3, é secretada pela glândula em uma menor quantidade, aproximadamente 20% da secreção e, o restante da sua produção ocorre a partir da conversão de T4 em T3 por meio da 5' desiodação de T4 nos tecidos periféricos promovida pelas desidases tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2) (LAZAR, 1993; WÄRNMARK *et al.*, 2003; MAMANASIRI *et al.*, 2006). O T3 ocupa receptores nucleares específicos, mediando a ação fisiológica do hormônio da tireoide (MAMANASIRI *et al.*, 2006; GROENEWEG *et al.*, 2020).

O crescimento e a função da glândula tireoide são controlados pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. O hormônio liberador da tireotrofina (TRH), sintetizado por neurônios dos núcleos supraóptico e supraventricular do hipotálamo estimula as células tireotróficas da hipófise a produzir o hormônio estimulador da tireoide (TSH), esse por sua vez, chega à circulação periférica e na tireoide e estimula as etapas de síntese e liberação de T4 e T3. Uma vez secretados, por terem características lipofílicas, o T3 e T4 não apresentam estabilidade

suficiente para circular de forma livre, sendo assim, mais de 99,95% do T4 e 99,5% do T3 circulam ligados a proteínas plasmáticas.

A globulina de ligação de tiroxina (TBG) é a proteína responsável por transportar cerca de 70 a 80% dos hormônios liberados na circulação, a transtirretina (TTR) carrega 10% desses e a albumina os outros 15% dos hormônios circulantes (MAMANASIRI *et al.*, 2006; BIANCO; KIM, 2006). A entrada dos hormônios nas células alvo ocorre principalmente pelos transportadores monocarboxilatos MCT8 e MCT10, pelo polipeptídeo ânion orgânico transportador (OATP1C1) e uma pequena parcela por difusão passiva. No interior da célula, a ação dos hormônios depende de sua ligação aos receptores nucleares de hormônio tireoidiano (TRs) (GROENEWEG *et al.*, 2020).

1.2 Características dos receptores de hormônio tireoidiano

O receptor do hormônio tireoidiano (TR) pertence à família de receptores nucleares, também composta pelos receptores de glicocorticoides, mineralocorticoides, estrogênios, progesterona, vitamina D e retinoides (MANGELSDORF; EVANS, 1995). Existem dois TRs, TR α e TR β , que são codificados pelos genes *THRA*, localizados no cromossomo 17 (17q21.1), e *THRB*, localizado no cromossomo 3 (3p24.2), respectivamente (WILLIAMS, 2000; BRIET *et al.*, 2018).

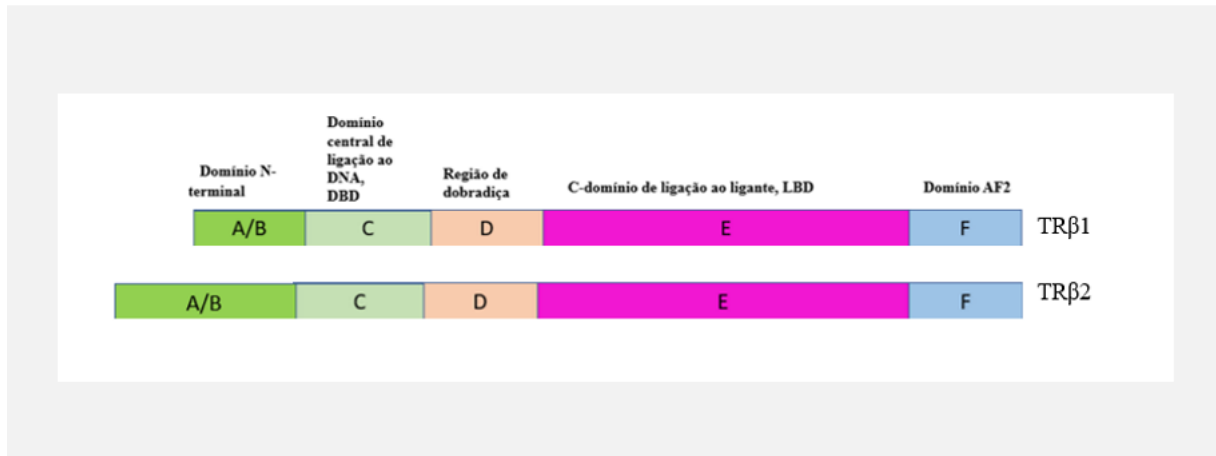
O gene *THRB* abrange uma região de 377669 bp e consiste em 11 éxons (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019). Existem três isoformas do TR β humano, TR β 1, TR β 2 e TR β 4. As isoformas TR β 3 e TR Δ β 3 foram encontradas apenas em ratos (TAGAMI *et al.*, 2010; CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019). A isoforma TR β 4 contém um *stop códon* que resulta na síntese de uma proteína truncada, portanto sem o domínio de ligação ao ligante (T3) (TAGAMI *et al.*, 2010).

Os receptores TR β 1 (461 aminoácidos), TR β 2 (476 aminoácidos) e TR β 3 (390 aminoácidos) são compostos por domínios, sendo eles:

- Domínio N-terminal (A\B);
- Domínio central de ligação ao DNA, [DBD (C)];
- Região de dobradiça (D);
- C-domínio de ligação ao ligante LBD (E);
- Domínio AF2 (F);

Essas isoformas têm estruturas semelhantes e se diferem apenas pelo domínio amino-terminal (N-terminal), que é variável (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019). As isoformas humanas TR β 1 e TR β 2, assim como seus domínios, estão ilustradas na Figura 1.

Figura 1 - Isoformas codificadas pelo gene TR β



Legenda: Composição dos receptores do hormônio tireoidiano, TR β 1 e TR β 2.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

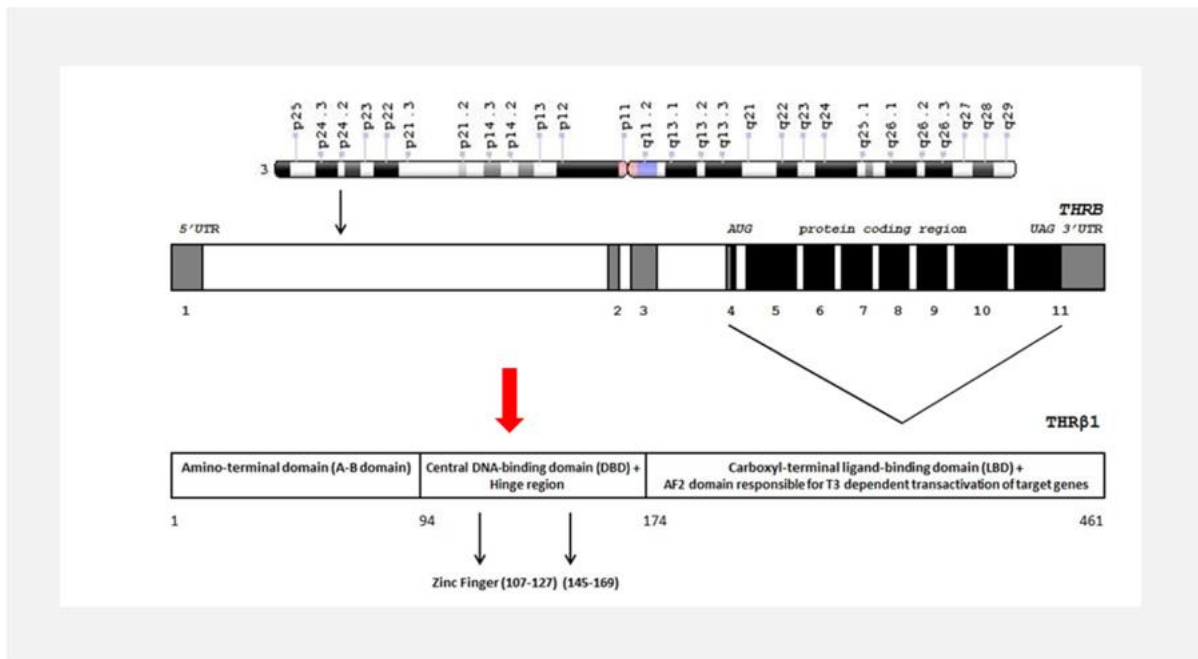
As isoformas são expressas nos tecidos em níveis diferentes. A isoforma TR β 1 é amplamente expressa em todos os tecidos humanos, especialmente na hipófise, hipotálamo, tireoide, rim e fígado (LAZAR, 1993). Já a isoforma TR β 2, é expressa principalmente no hipotálamo, hipófise, cóclea (ouvido interno) e retina, sendo crucial para o desenvolvimento de fotorreceptores. Essa isoforma é fundamental para a função visual e auditiva (DKHISSI-BENYAHYA *et al.*, 2007).

O gene *THRA* codifica as isoformas α 1 e α 2 que diferem em sua região carboxi-terminal, sendo assim, a isoforma α 2 não se liga ao hormônio, visto que possui a sequência alterada (LAZAR, 1993). TR α 1 está presente nos músculos esqueléticos, gordura marrom e coração; TR α 2 se expressa particularmente no cérebro. TR α 2, por não se ligar ao T3, pode inibir a transcrição mediada por TR β 1 ou TR α 1 (LAZAR, 1993; BARRA *et al.* 2004).

Cada sítio do receptor demonstrado na Figura 1 apresenta uma função. O domínio amino-terminal é responsável pela ligação de cofatores e proteínas reguladoras, assim como transativação independente de T3, dimerização do receptor e reconhecimento do DNA, denominada função de ativação 1 (AF-1). (WÄRNMARK *et al.*, 2003).

O DBD tem como função principal a ligação ao DNA. Está localizado na porção central dos receptores e possui dois segmentos em estrutura de aminoácidos conhecidos como “dedos de zinco” (Figura 2).

Figura 2 - Localização do DBD e dos “dedos de zinco”

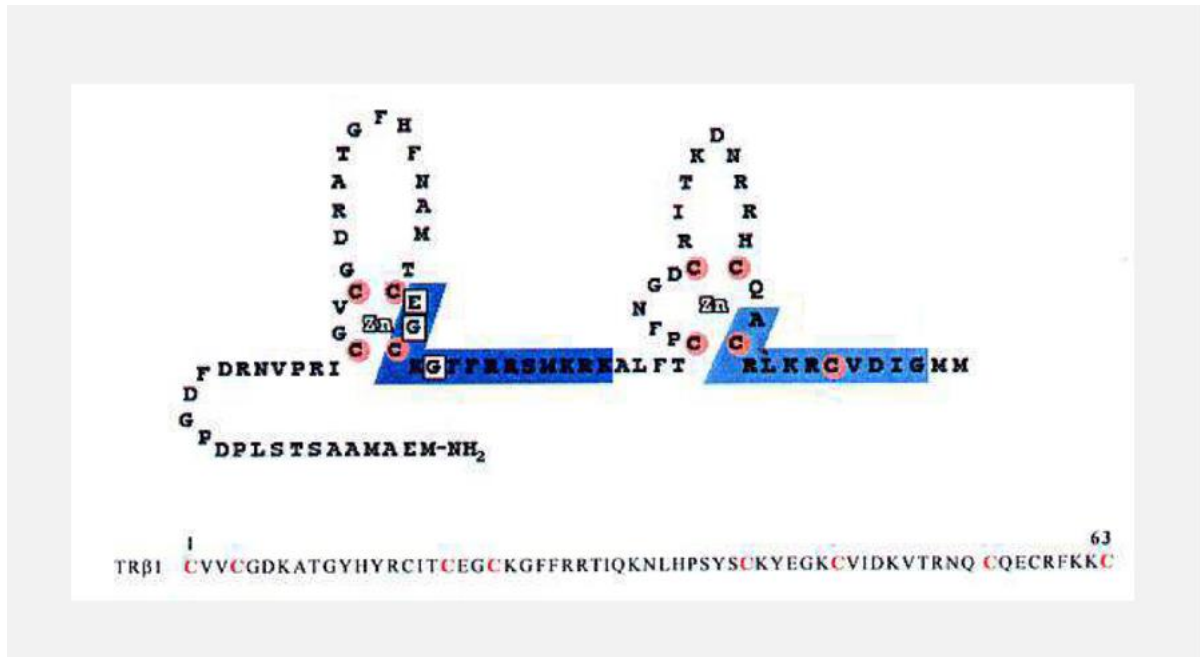


Legenda: Estrutura genética do *THRβ* e proteína TRβ1 (461 aminoácidos) com seus domínios funcionais. Localização do DBD e dos segmentos de aminoácidos conhecidos como “dedos de zinco”, indicados pela seta vermelha.

Fonte: Concolino, Costella e Paragliola (2019).

Cada dedo de zinco é formado por estruturas independentes em forma de alças compostas por quatro resíduos de cisteína, formando complexos coordenados por íons de zinco (RIBEIRO *et al.*, 1998a). Os dedos de zinco são separados por uma sequência de 15 a 17 aminoácidos (Figura 3) (BARRA *et al.*, 2004).

Figura 3 - Dedos de zinco

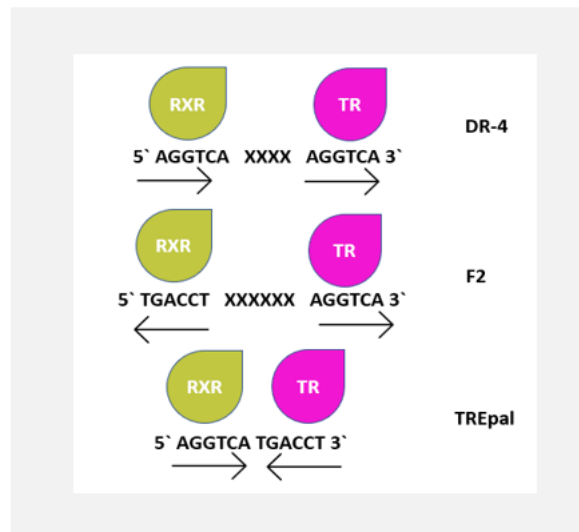


Legenda: Domínio de ligação ao DNA (DBD) do receptor do hormônio tireoidiano: segmento representativo dos dedos de zinco.

Fonte: Barra *et al.* (2004).

Três aminoácidos na base do primeiro dedo de zinco são responsáveis pelo reconhecimento do elemento responsivo ao hormônio tireoidiano (TRE), que são sequências específicas de DNA, formadas por duas cópias do hexanucleotídeo AGGTCA. Essas podem estar arranjadas em três orientações diferentes, sendo elas: repetição direta espaçada por quatro nucleotídeos quaisquer (DR-4), palíndromo invertido espaçado por seis nucleotídeos quaisquer (F2) e palíndromo sem nenhum espaçamento (TREpal) (Figura 4) (RIBEIRO; KUSHNER; BAXTER, 1995; RIBEIRO *et al.*, 1998a).

Figura 4 - Elementos responsivos ao TR



Legenda: Elementos responsivos ao TR: Repetição direta espaçada por quatro nucleotídeos (DR-4), palíndromo invertido espaçado por seis nucleotídeos (F2), palíndromo sem nenhum espaçamento (TREpal).

Fonte: Adaptado de Barra *et al.* (2004).

Outros cinco aminoácidos localizados na base do segundo dedo de zinco formam uma região importante para a dimerização do TR com o receptor de retinoide X (RXR) (BRENT, 1994; RIBEIRO *et al.*, 1998a; GLASS, 1994). Na região carboxi-terminal, está localizado o domínio de ligação ao hormônio, LBD, que possui várias funções, tais como: formação dos dímeros, localização nuclear e associação a proteínas corressoras e coativadoras.

Após a ligação do hormônio ao receptor, a região denominada função de ativação 2 (AF-2) interage com os coativadores, formando o complexo proteico envolvido na ativação da transcrição (WU; KOENIG, 2001; WEBB; NGUYEN; KUSHNER, 2003). Estudos de cristalografia de raios X demonstraram que o LBD do TR é composto por 12 alfa-hélices, organizadas em 3 camadas, sendo que o hormônio se aloja na camada central (WAGNER *et al.*, 1995). Os sítios DBD e LBD são ligados por uma pequena região que age como dobradiça, conhecida como *hinge*, e que promove o movimento de rotação do DBD em relação ao LBD, fazendo com que o TR se ligue nos TREs com diferentes orientações (KUROKAWA *et al.*, 1993; RIBEIRO *et al.*, 1998a; YEN, 2001).

1.3 Mecanismo Molecular de Ação dos Receptores dos Hormônios Tireoidianos

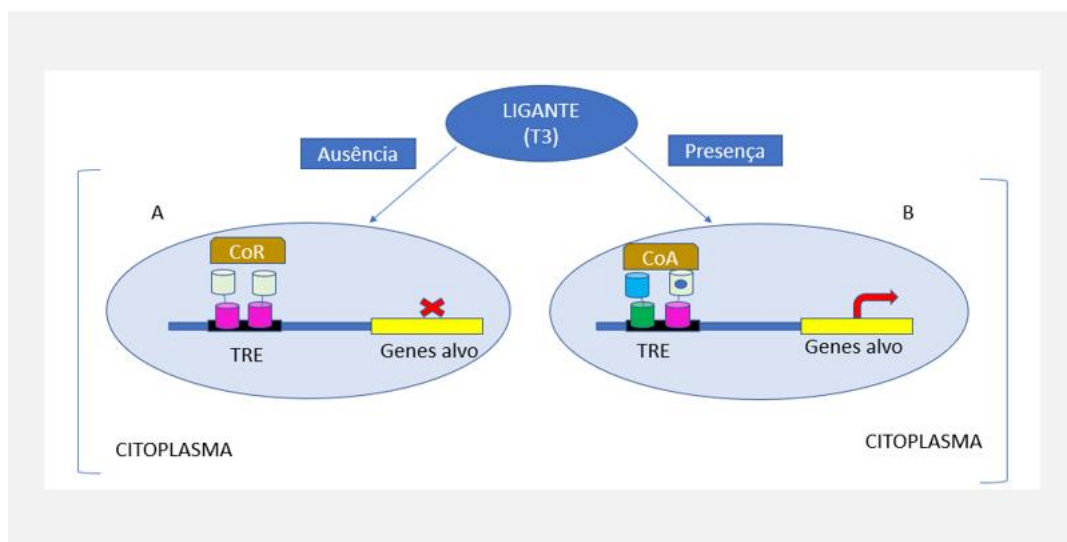
O TR age na regulação da expressão gênica a partir da sua ligação a sequências de DNA específicas presentes na região regulatória dos genes alvo (TRE), como já citado. Os efeitos

biológicos da ligação de TRE pelo receptor não ocupado por T3 em comparação com receptor ocupado são diferentes (PAPPA; REFETTOFF, 2018).

A ligação do T3 ao TR causa alterações, com formação de heterodímeros com o RXR e dissociação das proteínas correpessoras (CoR), principalmente NcoR (*Nuclear Receptor Corepressor*) (HÖRLEIN *et al.*, 1995) e SMRT (*silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor*) (CHEN; EVANS, 1995). Além disso, pode permitir o recrutamento de proteínas coativadoras (CoA), como coativadores do receptor nuclear 1 (SRC-1) e o complexo de proteína que interage com o receptor de vitamina D/proteína associada ao TR (TRAP/DRIP), que, por possuírem atividade histona acetiltransferase (HAT), estimulam a transcrição ao acetilarem as histonas (YEN, 2001; GLASS; ROSENFELD, 2000; MCKENNA; O'MALLEY, 2002).

Por meio da acetilação de histonas, a cromatina fica mais flexível, fatores de transcrição gerais são recrutados, iniciando, assim, o processo transcricional pela RNA polimerase tipo II (YEN, 2001). Na ausência do hormônio, os TRs são complexados a proteínas correpessoras e histonas desacetilases (HDACs), mantendo a cromatina compactada e permitindo que as histonas envolvam o DNA com mais força, reprimindo, dessa maneira, a transcrição gênica (CHENG, 2005) (Figura 5).

Figura 5 - Mecanismo Molecular da Ação dos Receptores dos Hormônios Tireoidianos



Legenda: **A:** Ausência de ligante (T3). Os TRs não ligados interrompem a transcrição basal, pois interagem com proteínas correpessoras. **B:** Ligação do T3 ao TR libera as proteínas correpessoras e recruta proteínas coativadoras, promovendo a transcrição gênica.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

1.4 Resistência ao Hormônio Tireoidiano

A Resistência ao Hormônio Tireoidiano (RHT) caracteriza-se pela redução da responsividade dos órgãos-alvos aos hormônios tireoidianos (COHEN *et al.*, 2000). Foi descrita pela primeira vez em 1967 por Refetoff, Dewind e Degroot que fizeram o relato de dois irmãos com quadro de bócio, idade óssea atrasada e surdo-mudez. Mesmo apresentando sintomas de hipotireoidismo, os níveis de T4 circulante eram elevados e contrastavam com a clínica.

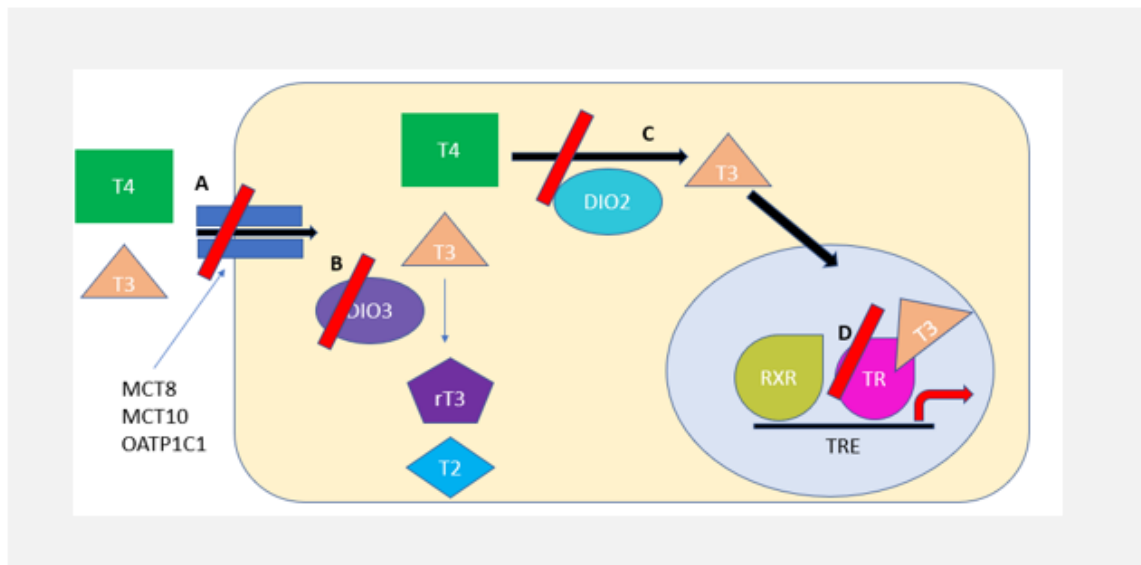
Essa é a primeira família descrita e única com padrão de herança autossômica recessiva. Em todos os outros casos descritos, o padrão de herança é autossômico dominante. Após 21 anos, em 1988, a base molecular da RHT foi demonstrada e se deve a defeitos no receptor β do hormônio tireoidiano. Atualmente a nomenclatura mais utilizada é resistência ao hormônio da tireoide beta (RTH β) (USALA *et al.*, 1988; CARVALHO; RAMOS, 2004; PAPPAS; REFETTOFF, 2018).

Essa síndrome é incluída, com base em uma classificação moderna, no grupo das síndromes de sensibilidade prejudicada ao hormônio tireoidiano (REFETTOFF *et al.*, 2014). Vários mecanismos podem estar envolvidos, tais como fatores fisiopatológicos da síndrome de sensibilidade prejudicada ao hormônio tireoidiano, incluindo defeito de transporte de membrana celular hormonal, como exemplo, a mutação no gene transportador monocarboxilato 8 (MCT8), que causa concentrações séricas elevadas de triiodotironina (T3), baixos níveis de T3 reverso e tiroxina (T4) (NAMBA *et al.*, 2008).

Defeito no metabolismo hormonal dos hormônios tireoidianos também é descrito, o que pode ocorrer por alteração na reação enzimática de deiodinação, já que o T4 precisa ser ativado por conversão para T3. Quando o processo não ocorre, a consequência é redução da disponibilidade de hormônio tireoidiano ativo nos tecidos (REFETTOFF *et al.*, 2014). A variante patogênica identificada nesse caso está localizada no gene *SECISBP2* (DUMITRESCU *et al.*, 2005).

Mutações envolvendo o gene do TR causam defeitos de ação hormonal e, a partir da descrição dessas mutações, os casos nos quais a ação dos HTs é defeituosa devido à alteração genética no receptor β (BARRA *et al.*, 2004; PAPPAS; REFETTOFF, 2018) (Figura 6) têm sido denominados de SRHT.

Figura 6 - Ilustração dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas Síndromes de Sensibilidade Prejudicada ao Hormônio da Tireoide



Legenda: **A:** Defeito de transporte de membrana celular. MCT8 e MCT10: transportadores monocarboxilatos, OATP1C1: polipeptídeo ânion orgânico transportador. **B:** Defeito na ação hormonal. Níveis reduzidos de deiodinase tipo 3, cuja expressão é predominantemente regulada por TR α impede a catabolização da triiodotironina e prejudica a ação hormonal. **C:** Defeito no metabolismo dos hormônios tireoidianos. Impossibilidade da conversão de T4 em T3 por erro no processo de deiodinação. **D:** Defeitos na ação hormonal. O TR mutante não consegue se ligar ao T3 (ligante) ou possui afinidade reduzida.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A nova classificação também é útil para distinguir essa síndrome da relacionada a defeitos no gene do receptor do hormônio tireoide alfa (*THRA*), que foi descrita pela primeira vez em 2012 e produz um fenótipo clínico diferente (MORAN; CHATTERJEE, 2015) (Tabela 1).

Tabela 1 - Síndromes de Sensibilidade Prejudicada ao Hormônio da Tireoide

Defeito	Gene	Localização	Herança	TSH	T3L	T4L	Características clínicas
MCT8	<i>SLC16A2</i>	Xq13.2	Ligada ao X	↑ou =	↑	↓	Hipotonia muscular, déficit cognitivo severo
SBP2	<i>SECISBP2</i>	9q22.2	AR	↑ou =	↓	↑	Azoospermia, fotossensibilidade,
RTH-alfa	<i>THRA</i>	17q21.1	AD (raramente AR)	↑ou =	↑ ou =	↓	Déficit cognitivo, microcefalia, atraso no desenvolvimento ósseo
RTH-beta	<i>THRB</i>	3p24.2	AD	↑ou =	↑	↑	Bócio, TDAH, taquicardia

Legenda: AD-Autossômico Dominante, AR-Autossômica Recessiva, TDAH - transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, ↑ aumentado, ↓ reduzido, = normal

Fonte: Adaptado de Refetoff *et al.* (2014).

1.5 Mecanismo Molecular da RHT: Mutações no Gene *THRB*

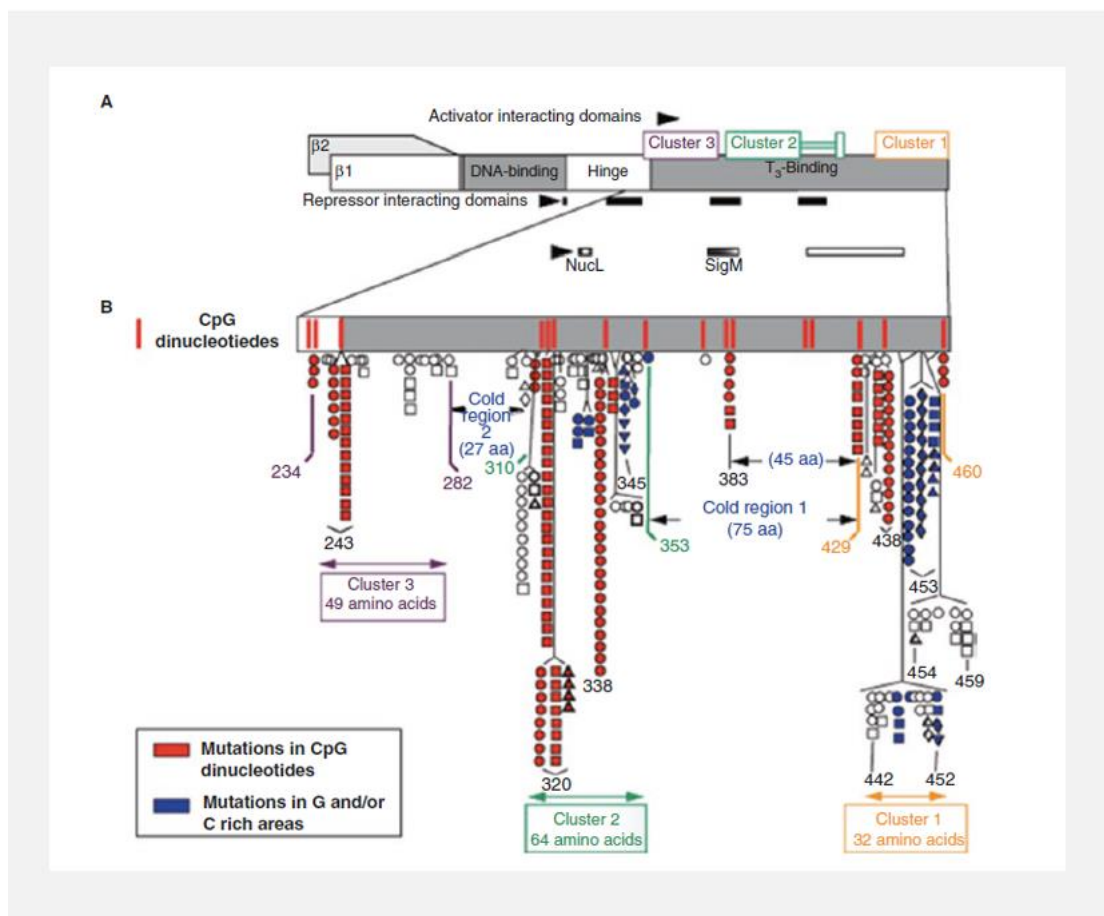
A RHT β é uma condição rara. Estudos incluindo 80.884 recém-nascidos, realizados em Oregon, e com 74.992 recém-nascidos, realizado na Espanha, mensuraram o TSH e T4, reportando a prevalência de 1 em 40.000 e 1 em 19.000 nascidos vivos, respectivamente (LAFRANCHI *et al.*, 2003; VELA *et al.*, 2019). O padrão de herança é autossômico dominante, sendo que apenas uma família foi descrita com padrão de herança autossômica recessiva, que foi o primeiro caso relatado.

Desde a primeira mutação *missense* descrita no gene *THRB* causando RHT β (SAKURAI *et al.*, 1989), na década de 1980, até o presente momento, mais de 4.000 indivíduos pertencentes a 805 famílias, abrigando 236 mutações diferentes foram descritos (PAPPA; REFETTOFF 2021). Concolino, Costella e Paragliola (2019) realizaram uma revisão da literatura e organizaram uma tabela com as variantes de *THRB*, sendo listado um total de 172 variantes com significância clínica patogênica ou desconhecida. Dessas, 88% são mutações *missenses*, 3% mutações *nonsense*, 6% mutações *frameshift* e 3% *indels* (ANEXO A). As mutações estão

localizadas nas áreas funcionais do domínio de ligação ao ligante (LBD) e na região de dobradiça adjacente (PAPPA; REFETTOFF, 2018).

Dinucleotídeos (CG) são chamados *hotspots* ou pontos quentes mutagênicos no gene *THRB*, regiões em que as mutações são encontradas (Figura 7) (CARVALHO; WEISS, 2004; PAPPA; REFETTOFF, 2018).

Figura 7 – Gene e *Hotspots*



Legenda: Representação esquemática do receptor de hormônio tireoide beta (TR β) e as regiões quentes *hotspots*.
Fonte: Pappa e Refetoff (2018).

A maioria das mutações são substituições de apenas um nucleotídeo, que resultam na troca de um aminoácido, mas há descrições de inserções, deleções e duplicações de nucleotídeos, que alteram a estrutura do gene (YEN, 2003; BECK-PECCOZ *et al.*, 1994). Mutações no mesmo códon que produzem diferentes aminoácidos também foram relatadas, como no códon 453, alterando a prolina para treonina, serina, alanina, asparagina, tirosina, histidina ou isoleucina (PAPPA; REFETTOFF, 2018); e no códon 383, alterando arginina para histidina ou cisteína (HAYASHI *et al.*, 1994), entre outras.

Em aproximadamente 85% dos casos, a RHT β é causada por mutação germinativa em *THRB*, cerca de 20% são consideradas mutações “de novo”, ou seja, a RHT aparece de forma esporádica. Em uma minoria dos indivíduos que manifestam o fenótipo RHT β , não foram identificadas mutações. Esse subgrupo foi referido como “SRHT não-TR”, suas características clínicas e bioquímicas não foram diferentes dos portadores de mutação conhecida (WEISS *et al.*, 1996). Raramente esses casos podem apresentar um mosaicismo em uma mutação de novo ou são resultado de causas ainda não identificadas, como mutações em coativadores e correpressores (REUTRAKUL *et al.*, 2000).

Na presença de mutações no gene do TR, o receptor mutante não consegue se ligar ao HT ou possui afinidade reduzida por isso. Assim, como consequência, não ocorre a ativação gênica, já que o correpressor não é liberado (YOH; CHATTERJEE; PRIVALSKY, 1997).

A importância dos TRs na fisiopatologia da RHT β tem sido demonstrada por meio de estudos em modelos animais, que reproduzem as mutações encontradas em seres humanos, associadas a experimentos *in vitro* (FLORKOWSKI *et al.*, 2006; FURUYA *et al.*, 2007). Um fenômeno denominado efeito dominante negativo (DNE) é descrito como parte da fisiopatologia da doença e ocorre porque os TRs mutantes continuam capazes de se ligar ao DNA e dimerizar com os TRs normais ou RXRs, bloqueando, assim, a ligação do TR normal, o que resulta em ação periférica defeituosa dos HTs (SAKURAI *et al.*, 1990).

Isso explica por que indivíduos que expressam um único alelo selvagem devido à exclusão de um alelo do TR β não manifestam o fenótipo, enquanto aqueles que expressam um alelo mutante *THRB* têm RHT β (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019).

1.6 Características Clínicas e Laboratoriais da RHT β

Os pacientes portadores de RHT por mutações no gene do TR β têm apresentação clínica bastante diversificada. Indivíduos da mesma família e com mutações idênticas podem apresentar fenótipos diferentes (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019). Entre as explicações para essa variabilidade e gravidade dos sintomas, são descritas como prováveis causas: a eficácia dos mecanismos compensatórios, a eficácia da terapia prévia, a expressão de cofatores, como o SRC-1 e a expressão do alelo mutante em cada tecido (REFETOFF; DUMITRESCU, 2007).

A maioria dos indivíduos com RHT β são assintomáticos ou apresentam sintomas de leves a moderados. É importante ressaltar que o mesmo indivíduo pode manifestar sintomas de hipotireoidismo; como *déficit* cognitivo e retardo do crescimento, assim como sintomas de

hipertireoidismo, como avanço da idade óssea e taquicardia. Isso se deve, provavelmente, ao grau de compensação da resistência ao HT, a qual é variável entre os tecidos e indivíduos (BRUCKER-DAVIS *et al.*, 1995). Os achados da privação ao HT geralmente estão presentes em pacientes que receberam de forma equivocada terapia ablativa com iodo radioativo ou que foram submetidos à tireoidectomia total inadequadamente como forma de tratamento (REFETOFF; DUMITRESCU, 2007).

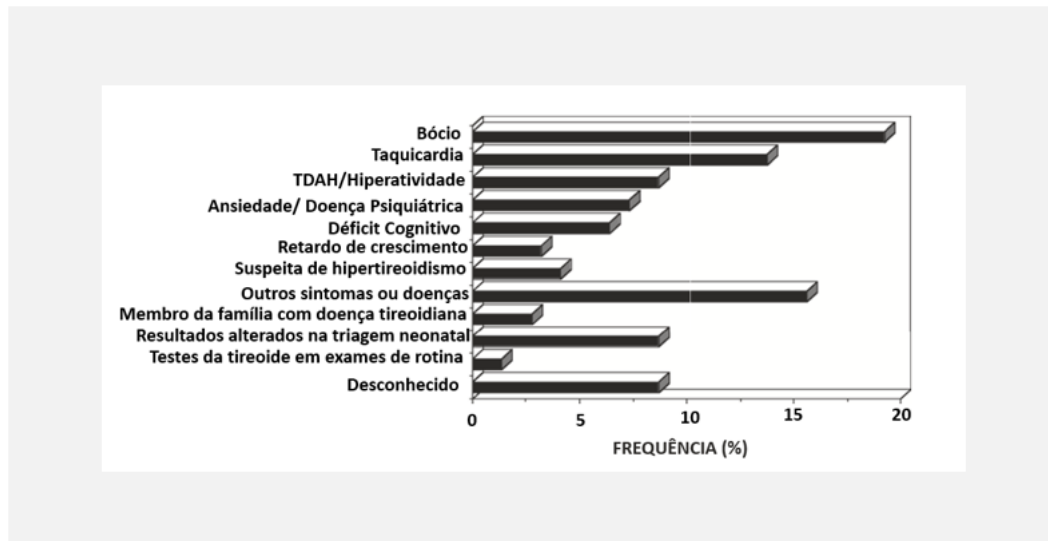
O achado clínico mais frequente nos pacientes é o bócio, presente em 65-85% dos indivíduos afetados (PAPPA; REFETOFF, 2018). É importante destacar que, mesmo com TSH em níveis normais, os pacientes portadores de RHT β apresentam uma potência biológica aumentada, podendo resultar em bócio (PERSANI *et al.*, 1998).

Além do bócio, achados comuns em indivíduos afetados pela resistência ao hormônio tireoidiano são: transtorno do déficit de atenção (TDAH) com hiperatividade (33-68%) e taquicardia (33-75%) (Figura 8) (PAPPA; REFETOFF, 2018). O diagnóstico de RHT β nesses indivíduos é feito após propedêutica inicial com a dosagem dos HT, uma vez que essas anormalidades geralmente levam à avaliação da função da tireoide (REFETOFF; WEISS; USALA, 1993, PAPPA; REFETOFF, 2018). Ademais dessas características, deficiências de aprendizagem, perda auditiva e infecções de ouvido também foram relacionadas à resistência ao hormônio tireoidiano (HAUSER *et al.*, 1993; BRUCKER-DAVIS *et al.*, 1995).

Alguns casos de carcinoma diferenciado de tireoide associados à RHT β foram relatados. Vinagre *et al.* (2014) realizaram uma revisão na literatura de casos publicados, além de relatar um caso de paciente jovem com diagnóstico de RHT β e microcarcinoma papilífero associado à mutação BRAF e metástase linfonodal. Os autores relacionaram as elevadas concentrações plasmáticas de TSH como provável causa de efeito adverso no desfecho do câncer de tireoide.

Em 2017, Campi *et al.* identificaram um defeito na função de fotorreceptores da retina. Foi a primeira evidência *in vivo* de defeitos funcionais do fotorreceptor de retina no RHT β , pois anteriormente só existiam estudos descritos em modelos animais.

Figura 8 - Motivos de solicitação de exames para investigação de doenças tireoidianas em pacientes portadores de RTH β



Legenda: Motivos de solicitação de exames para investigação de doenças tireoidianas em pacientes portadores de RTH β .

Fonte: Adaptado de Pappa e Refetoff (2018).

A característica fundamental para o diagnóstico laboratorial de RHT β é uma alta concentração de T4 livre sérica e TSH não suprimido. Se dosados, T3 livre e T3r geralmente estão superiores aos valores de referência (PAPPA; REFETTOFF, 2021). Os anticorpos positivos para doença tireoidiana autoimune são outra característica laboratorial que pode estar presente em indivíduos afetados.

Barkoff *et al.* (2010) demonstraram, por meio de estudo com 330 indivíduos portadores de RHT β comparados a 92 parentes não afetados, que a presença de pelo menos um dos anticorpos testados (antitireoglobulina e antiperoxidase) foi maior na população portadora de RHT β , especialmente em homens (OR = 4,36; $P = 0,024$; IC 95%, 1,22 a 15,64).

Alguns autores categorizam os fenótipos como RHT β generalizado e RHT β pituitário seletivo (PAPPA; REFETTOFF, 2021). De acordo com essa classificação, os pacientes assintomáticos, ou seja, quando o defeito é compensado pelos altos níveis de HT e apresentam níveis normais de TSH, seriam definidos como RHT β generalizado (GRHT), e os pacientes sintomáticos, em estado hipermetabólico, quando a capacidade da hipófise de detectar os níveis elevados de HT está parcialmente prejudicada, seriam definidos como RHT β pituitário seletivo (PRHT) (SAFER *et al.*, 1999).

1.7 Diagnósticos Diferenciais

É indiscutível que concentrações elevadas de T3 e T4 associados com TSH não suprimido são um achado indicativo de hipertireoidismo central (PAPPA; REFETOFF, 2018). Entretanto, antes de prosseguir com a investigação diagnóstica, algumas condições que possam apresentar as mesmas características laboratoriais devem ser eliminadas. Dessa forma, é necessário investigar: o uso de medicamentos; a presença de anticorpos que possam interferir nas análises laboratoriais hormonais; e anormalidades nas proteínas transportadoras de HT, realizando a dosagem de T3L e T4L por diálise de equilíbrio (REFETOFF; WEISS; USALA, 1993).

O principal diagnóstico diferencial da RHT β é o TSHoma, ou tumor hipofisário produtor de TSH (SRIPHRAPRADANG *et al.*, 2016). Para distinguir os tumores hipofisários secretores de TSH e a RHT β , podem ser feitos testes e/ou dosagens de alguns marcadores que auxiliam no diagnóstico, tais como o teste de estímulo com hormônio liberador de tireotrofina (TRH). Os TSHomas geralmente não respondem ao TRH; a variante hipofisária da RHT β responde, nesse caso a resposta é normal ou exagerada (REFETOFF; WEISS; USALA, 1993).

Outra análise para diferenciar essas duas condições é a avaliação da resposta do TSH à administração de hormônio tireoidiano. Para adultos, são administradas 50, 100 e 200 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de L-T3, em doses diárias divididas em três dias consecutivos. As doses são ajustadas em crianças de acordo com o peso (Tabela 2) (PAPPA; REFETOFF, 2018).

Tabela 2 - Dose de T3 ajustada pelo peso

Dose	Idade	Peso
25 μg	1 a 3 anos	8- 15 Kg
50 μg	4 a 9 anos	16-25 Kg
75 μg	10 a 14 anos	26-45 Kg

Fonte: Elaborado pelo autor com base em Pappa e Refetoff (2018).

Os adenomas pituitários apresentam falha em suprimir TSH pelo teste de supressão com L-T3 (MACCHIA *et al.*, 2014). A preferência do L-T3 ao L-T4 é devido à meia vida mais curta daquele, e ao efeito direto nos tecidos, sobrepondo potenciais defeitos no metabolismo, bem como no transporte do T4 (HU; LAZAR, 2000). Além dos testes que demandam maior tempo

para coleta e análise, podem ser feitos outros exames para diagnóstico diferencial entre RHT β e TSHomas (PAPPA; REFETOFF, 2018).

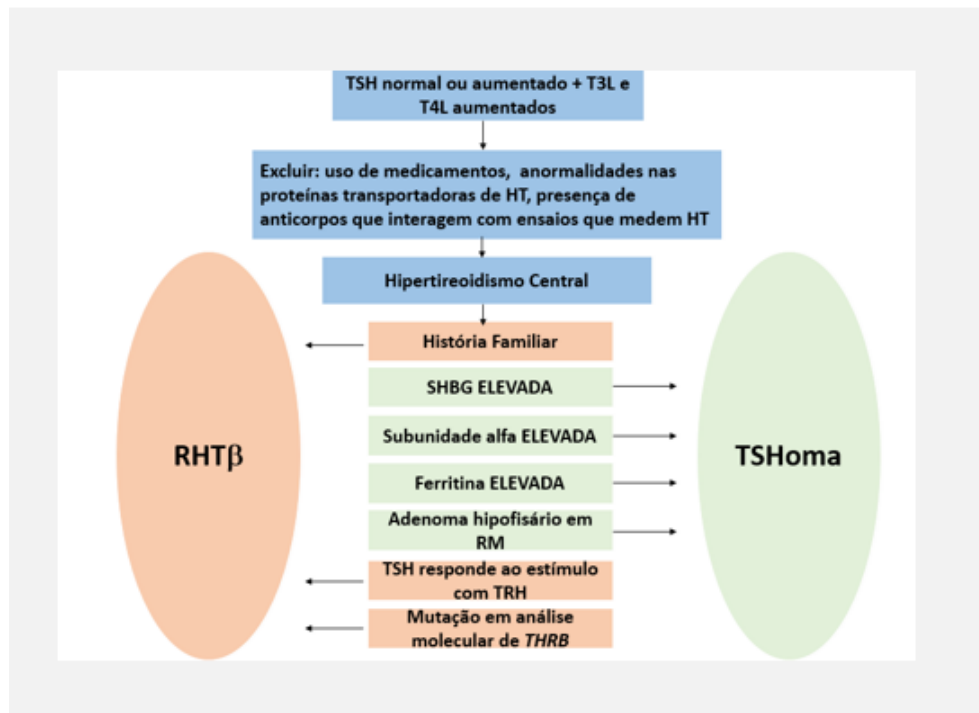
Nesses casos, a subunidade alfa pode ser mensurada e é usada como marcador para o diagnóstico diferencial, uma vez que nos TSHomas ela está desproporcionalmente elevada (BECK-PECCOZ *et al.*, 1996). Exceção a esse exame são mulheres na pós-menopausa que apresentam subunidade alfa elevada acompanhando seus altos níveis séricos de gonadotrofina e, por esse motivo, a interpretação pode ficar prejudicada (BECK-PECCOZ *et al.*, 2013).

Outros marcadores séricos da ação dos hormônios tireoidianos também auxiliam no diagnóstico, dentre eles a SHBG (globulina ligadora dos hormônios sexuais), que é um marcador utilizado quando as concentrações se elevam no TSHoma, o que não acontece na RHT β . Essa elevação da SHBG ocorre em decorrência do aumento da produção hepática devido ao excesso de T4 e T3.

O CTX (telopectídeo carboxiterminal do colágeno tipo 1) e a ferritina também são dosados para diagnóstico diferencial. Na tireotoxicose, eles estão elevados, mas sem alterações em pacientes com função tireoidiana normal ou na RHT β (BECK-PECCOZ *et al.*, 2009). A ressonância magnética de sela túrcica é o exame de imagem de escolha nesses pacientes, a presença de lesões pituitárias suporta fortemente o diagnóstico de TSHoma (PAPPA; REFETOFF, 2021).

Considerando que a RHT β é uma doença autossômica dominante, a descoberta de um fenótipo bioquímico semelhante em outros parentes de primeiro grau é altamente sugestiva de RHT, ou seja, em indivíduos com RHT β estabelecida, a avaliação de familiares próximos por mensuração plasmática de TSH e T4 livre suporta o diagnóstico (PAPPA; REFETOFF, 2021). Entretanto, sempre que possível, a análise genética deve ser feita, já que mutações no gene beta do receptor do hormônio tireoide são identificadas em aproximadamente 85% do RHT β , especialmente em casos familiares. Além disso, a identificação de uma mutação genética *THRB* fornece diagnóstico sólido, permite a realização de aconselhamento genético e previne tratamento desnecessário (PAPPA; REFETOFF, 2018) (Figura 9).

Figura 9 - Diagnóstico diferencial de RHT β



Legenda: Diagnóstico diferencial de RHT β . HT: hormônio tireoidiano, SHBG: globulina ligadora de hormônios sexuais, TSH: hormônio estimulante da tireoide, TRH: hormônio liberador de tireotrofina, RM: ressonância magnética.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

1.8 Tratamento

Até o momento não existe tratamento específico para corrigir totalmente o defeito na RHT β (PAPPA; REFETTOFF, 2021). A grande maioria dos pacientes é assintomática, ou seja, a resistência tecidual ao HT é compensada pela elevação dos níveis circulantes de T3 e T4, e em geral, nenhum tratamento é necessário. Já para a minoria sintomática, o tratamento é realizado de acordo com o sintoma apresentado (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019).

Indivíduos que apresentam alguns sintomas de tireotoxicose, tais como taquicardia e tremor, beneficiam-se do uso do betabloqueador. O atenolol é o medicamento de escolha, já que o propranolol inibe a conversão de T4 em T3 e, portanto, acaba reduzindo o *feedback* central mediado pelo T3 (OLATEJU; VANDERPUMP, 2006). Em casos raros e graves, como no relato de caso de um bebê que apresentava taquicardia descompensada mesmo em uso de betabloqueadores, *déficit* de crescimento e outros sinais e sintomas de hipermetabolismo, pode-se considerar o uso de análogos de somatostatina a curto prazo para reduzir os níveis de HT

(WU *et al.*, 2006). É importante ressaltar que o medicamento não deve ser usado por longos períodos devido aos seus efeitos colaterais e à sua incapacidade de manter a supressão do TSH (WU *et al.*, 2006).

Crianças que apresentam níveis elevados de TSH, atraso no desenvolvimento e no crescimento e déficit cognitivo, ou seja, clínica de hipotireoidismo, devem ser consideradas para o tratamento com levotiroxina (REFETOFF; WEISS; USALA, 1993).

O TDAH, condição clínica bastante comum nessa população, deve ter como primeira opção terapêutica o tratamento padrão para TDAH, independentemente de RHT β . Sempre que possível, é oportuno fazer o acompanhamento multidisciplinar com psiquiatras, psicólogos e endocrinologistas (WEISS *et al.*, 1993).

Outra opção terapêutica para essa população é o uso de liotironina (L-T3). O L-T3 em doses supra-fisiológicas pode ser benéfico na redução da hiperatividade e impulsividade em pacientes portadores de TDAH e RHT β . Na maioria das crianças com TDAH que não possuem RHT β , o tratamento L-T3 não tem efeito ou pode ser nocivo (WEISS; STEIN; REFETOFF, 1997). Vale ressaltar que no Brasil o L-T3 não é comercializado.

Já para pacientes que apresentam bócio associado a outros sintomas secundários ao excesso de HT nos tecidos periféricos, o ácido triiodotiroacético (TRIAC) pode ser utilizado (OLATEJU; VANDERPUMP, 2006). O TRIAC suprime o TSH com poucos efeitos tireomiméticos ao nível dos tecidos periféricos. Isso ocorre porque a droga tem afinidade semelhante ao TR β 1 selvagem e TR β 1 mutado, enquanto o L-T3 tem menos afinidade ao TR β 1 mutado (PAPPA; REFETOFF, 2021).

As ações do TRIAC incluem hiperativação da função TR β normal, restauração da função TR β 1 mutante para normal ou redução da função de efeito dominante negativo do TR β 1 mutante (OLATEJU; VANDERPUMP, 2006, PAPPA; REFETOFF, 2021). Apesar desses efeitos, alguns estudos mostraram resultados controversos no que diz respeito ao uso do TRIAC na RHT β (WEISS; REFETOFF, 1999; DULGEROFF *et al.*, 1992; OLATEJU; VANDERPUMP, 2006).

Outro ponto importante que deve ser abordado é o hipotireoidismo após tireoidectomia total ou após radioterapia. Já que RHT β é uma doença rara, não é incomum o diagnóstico prévio errôneo. Nesses casos a orientação é tratamento com levotiroxina, cuja dose pode chegar a 1000 mcg/dia (WEISS, 1999).

Ainda não existe uma recomendação clara ou uma diretriz sobre o manejo RHT β nas gestantes, mais estudos são necessários para chegar a um consenso, já que o gerenciamento dos níveis hormonais nessa população não é simples (PAPPA; REFETOFF, 2021). Por se tratar de

uma doença autossômica dominante, fetos afetados de mães afetadas são protegidos contra o excesso de hormônios. Há casos em que existe a possibilidade de o feto não ser afetado (não herdou uma cópia do gene mutante da mãe), mas, nessa situação, o indivíduo pode ser prejudicado pelos altos níveis hormonais maternos (PAPPA *et al.*, 2017). O diagnóstico pré-natal pode ser feito no DNA via amniocentese ou por testes para a presença ou ausência de mutação materna na amostra do feto (PAPPA *et al.*, 2017; PAPPA; REFETOFF, 2018).

Segundo Anselmo *et al.* (2004), que realizaram um estudo retrospectivo para avaliar os efeitos do excesso de HT em fetos de mães com RHT β , gestantes com fetos não afetados têm elevada taxa de aborto (média de 22,9%). Nesses casos a orientação é ponderar o uso de medicamentos antitireoidianos para não manter os níveis maternos de T4L 20 % acima do limite superior de normalidade (WEISS; DUMITRESCU; REFETOFF, 2010; PAPPA *et al.*, 2017).

Nenhum tratamento citado corrige totalmente o defeito da RHT β . Para isso acontecer, seria necessário o desenvolvimento de um análogo que se ligasse aos TR β s mutantes e, assim, anulasse o efeito dominante negativo (OLATEJU; VANDERPUMP, 2006; PAPPA; REFETOFF, 2021).

Yao *et al.* (2019) estudaram o medicamento roxadustat e testes *in vitro* mostraram que a molécula teve uma ligação 3 a 5 vezes maior que o ligante T3 aos mutantes TR β V264D, H435L e R438H. Os THR β mutantes interrompem uma ligação crítica de hidrogênio necessária para a ligação dos hormônios tireoidianos, cessando, dessa forma, a transcrição. O medicamento estudado retém interações hidrofóbicas com THR β , permitindo a recuperação da atividade dos THR β mutantes.

Outros medicamentos que poderiam auxiliar no tratamento dos indivíduos sintomáticos portadores RHT β seriam os antagonistas de HT específicos para TR alfa predominantemente expresso no coração, de modo a reduzir os efeitos cardiotoxicos (PAPPA; REFETOFF, 2021). Porém, até o presente momento, esses tratamentos não estão disponíveis, sendo o manejo do RHT β realizado de acordo com os sintomas apresentados pelos indivíduos afetados.

Sabe-se que RHT β é uma síndrome genética rara. Por esse motivo, frequentemente indivíduos afetados recebem diagnóstico errôneo e tratamento inadequado, portanto, sempre que possível, o diagnóstico de RHT β deve ser confirmado por testes moleculares (PAPPA; REFETOFF, 2018).

Neste trabalho estudou-se detalhadamente uma família brasileira portadora de RHT β com fenótipo clínico bastante heterogêneo. Uma vez encontradas mutações em *THRB*, foi proporcionado ao indivíduo afetado um diagnóstico sólido, sendo possível oferecer um

aconselhamento genético e tratamento adequado de acordo com os sintomas apresentados. Além disso, com o diagnóstico molecular, pode-se caracterizar melhor essa doença rara, oferecendo mais dados à comunidade científica, para que futuramente um tratamento específico, com medicamentos que possam interagir especificamente com o TR β mutante, possa ser disponibilizado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar em uma família brasileira, a partir de um caso índice suspeito de RHT β , alterações moleculares no gene *THRB*, além de realizar a correlação genótipo/fenótipo.

2.2 Objetivos específicos

1. Investigar, por meio do sequenciamento de Sanger, polimorfismo e/ou mutações no gene *THRB* (éxons 8-11);
2. Caracterizar clinicamente, por meio de exame físico, exames bioquímicos e exames de imagem, os fenótipos dos membros da família;
3. Analisar a prevalência das alterações genéticas candidatas; e avaliar a patogenicidade a partir de guideline da *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (RICHARDS *et al.*, 2015);
4. Avaliar *in silico* o impacto da presença da variante para a estrutura e função proteica;
5. Realizar a correlação fenótipo/genótipo dos pacientes portadores da mutação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção de pacientes

A população do estudo compreendeu dezesseis pacientes de uma mesma família, sem relato de consanguinidade. Inicialmente, o caso índice que apresentava alterações em exames laboratoriais sugestivos de resistência ao hormônio tireoidiano foi estudado.

Depois de achada a variante patogênica no probando, quinze parentes foram convocados para análise laboratorial. Desses, doze foram encaminhados para análise genética a fim de avaliar presença de alteração no gene *THRB*. A análise molecular foi realizada nos laboratórios de Genética Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e de Genética Molecular da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP-BOTUCATU).

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Todos os pacientes e seus familiares que aceitaram participar deste estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

3.2 Coleta dos dados clínicos

O probando, assim como os familiares convocados para o estudo, foram avaliados clinicamente por médico endocrinologista, por meio de anamnese e exame físico geral e direcionado a patologias tireoidianas.

3.3 Coleta do material biológico

Amostras de sangue foram coletadas dos pacientes com alteração em exames laboratoriais; e de pacientes com chance provável de serem portadores da variante patogênica, ou seja, parentes de primeiro grau de indivíduos com alteração laboratorial. O material foi coletado de 12 familiares.

As amostras foram coletadas com técnica adequada para a realização da análise genética. Considerando as regiões mais possivelmente associadas a variantes patogênicas relacionadas à resistência ao hormônio tireoidiano, foi realizada a amplificação dos éxons 8 ao 11 do gene *THRB* do probando, e, posteriormente, a amplificação do éxon 11 dos demais participantes, região na qual a variante patogênica do caso índice foi encontrada.

3.4 Extração de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído a partir de leucócitos do plasma dos participantes da pesquisa pelo método modificado de concentração salina de Lahiri e Nurnberger (LAHIRI; NURNBERGER, 1991). As amostras de sangue foram transferidas para tubos de 50mL, aos quais a solução TKM1 (Tris-HC 10mM; KCl 10mM; MgCl₂ 10mM; EDTA 4mM) foi adicionada. Em seguida, 500µL de Triton X-100 foram acrescentados à solução, com a finalidade de promover a hemólise.

Após agitação vigorosa da mistura, foi centrifugada a 1.255g por 15 minutos, a 4°C. Depois da centrifugação, o sobrenadante, repleto de restos de hemácias, foi removido; e o precipitado, contendo leucócitos, foi lavado com a solução TKM1. Nesse passo, foi realizada uma centrifugação a 475g por 10 minutos, a 4°C. Novamente, o sobrenadante foi descartado, e o precipitado, contendo leucócitos, mantido no tubo. Nessa etapa, 1.600µL de TKM2 (Tris-HCl 10mM; KCl 10mM; MgCl₂ 10mM; EDTA 33mM; NaCl 400mM) foram adicionados ao precipitado, juntamente com 100µL SDS 10% – tendo sido este utilizado para promover a lise de leucócitos.

Em seguida, o tubo foi mantido a 55°C, em banho-maria, por 20 minutos. Após o período de incubação, 900µL de NaCl (6 M) foram adicionados, com a função de promover a precipitação de proteínas. Foi realizada uma última centrifugação de 15 minutos, a 21.800g, a 4°C. Dessa vez, o sobrenadante, contendo DNA, foi transferido para um novo tubo, com 5mL de álcool a 100%. Nesse momento, houve a visualização do DNA, e este foi lavado em álcool 70%, secado e transferido para tubo contendo o tampão de eluição TE (Tris-HCl 10mM; EDTA 1mM, pH 7.0-8.0).

3.5 Quantificação e diluição

Após a extração do DNA, fez-se a quantificação, para averiguar a quantidade de DNA extraída na etapa descrita anteriormente. Para essa quantificação, utilizou-se o espectrofotômetro NanoDrop 2000 (*Thermo Scientific*). A pureza das amostras foi dada por meio das razões 260/280 e 260/230. A partir dessa etapa, as amostras foram diluídas para uma concentração de 25 ng/µL e armazenadas a 4°C, em geladeira específica para armazenamento de amostras de DNA.

3.6 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A partir do processo de extração, tem-se todo o conteúdo genético celular. Porém, para a avaliação de regiões específicas, associadas à análise molecular da RTH β , fez-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), seguindo os parâmetros: 100ng de DNA, 2.5 μ L de Tampão IIB 10x (NaCl 40mM; Tris-HCl 10mM, pH 8; Triton X-100 0.1%; MgCl₂ 1.5mM), 2.5 μ L de dNTPs (0.2mM), 0.5 μ L de cada par de iniciadores (10 pmol/mL) e 0.5 μ L de Taq DNA polimerase (0.625U).

Os produtos foram amplificados em termociclador, utilizando as seguintes etapas: desnaturação a 94°C por 3 minutos e 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento com temperatura de 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. Ao término dos ciclos, as reações passaram por uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram purificados com o kit de purificação Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega Corporation, Madison, WI).

Os iniciadores específicos para a amplificação dos diferentes éxons dos genes *THRB* foram desenhados utilizando o programa Primer3 v.4.0 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) (Tabela 3). Todos foram conferidos manualmente a partir da análise da sequência disponível no banco de dados do Ensembl (<http://www.ensembl.org>).

Tabela 3 - Especificações dos Iniciadores

GENE	EXON	PRIMER	TAMANHO	Ta
<i>THRB</i>	8	Forward 5'GTCTCATCTTTCTCCCCCTC 3' Reverse 5'ACTCCCTCATTCCCATTGGC 3'	741 pb	60 °C
	9	Forward 5'TGCAGCAACAGTCCTGTAAAC3' Reverse 5'ATGGGCCTTACACGGACAAG 3'	591 pb	60 °C
	10	Forward 5'AGTCTGCAGCCAAGTAGGGA 3' Reverse 5'GGGACACTGCAAAAAGCATCA 3'	618 pb	60 °C
	11	Forward 5'TGGACAAAGCAAGCCTTCCC 3' Reverse 5'TCACAGGACCGGAGAACGAA 3'	511 pb	60 °C

Legenda: Cada iniciador encontra-se descrito em relação ao gene em que se anela, éxon(s) de interesse, sequências de bases, tamanho do amplicon em pares de base (pb) e temperatura de anelamento (Ta) padronizada.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

3.7 Eletroforese (gel de acrilamida)

A visualização dos produtos da PCR e seus purificados foi realizada em gel de poliacrilamida 6,5%. O protocolo de coloração envolveu uma etapa de fixação em ácido acético glacial 10%, lavagem em água destilada por 3 minutos, impregnação em solução de nitrato de prata (10.5g AgNO₃, q.s.p 100mL H₂O, formaldeído 37%, q.s.p 50mL de água destilada), dupla lavagem em água destilada e a etapa de revelação em solução de carbonato de sódio (3g de NaCO₃, q.s.p 100mL H₂O, 75mL de formaldeído 100% e 20mL de tiosulfato de sódio 10mg/mL).

3.8 Purificação do produto de PCR

A purificação foi realizada com o produto de PCR, após verificar a sua eficácia via eletroforese. Fez-se purificação do DNA com 20 µL de água milli-Q autoclavada e 60 µL de isopropanol 100%. Posteriormente, manteve-se por 15 minutos à temperatura ambiente e centrifugou-se por 25 minutos, a 14.000g. O sobrenadante foi retirado por inversão e houve adição de 150 µL de Etanol 70% para lavagem. Por fim, centrifugou-se por mais 10 minutos, a 14.000g. Descartou-se o sobrenadante e, após secagem, 35 µL de água milli-Q foi adicionada.

3.9 Reação de sequenciamento

As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando *BigDye Terminator v.3.1 cycle sequencing kit*, seguindo as instruções do fabricante (*Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA*). As sequências foram obtidas em sequenciador 3500 *Genetic Analyzer* (*Applied Biosystems*) e analisadas utilizando-se o programa *Sequencher v.4.9*.

3.9.1 Análise das variantes

Os eletroferogramas gerados no sequenciador foram salvos em pastas organizadas por local (gene e éxon) e por paciente. A análise de cada eletroferograma ocorreu no programa *Sequencher v.4.9*, com pareamento da sequência obtida com a sequência referência correspondente ao trecho.

O transcrito utilizado para comparação foi *THRB: ENST00000646209.2*. As alterações encontradas foram pesquisadas no navegador de genomas *Ensembl* e em bancos de dados, como o *Single Nucleotide 46 Polymorphism database (dbSNP)* e *Clinically relevant variation (Clinvar)*, do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.

As alterações identificadas no sequenciamento foram submetidas a uma análise *in silico*, para avaliar a patogenicidade da alteração sob a estrutura proteica. Para essa predição, foram utilizados os critérios e diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)*, os quais se encontram descritos no trabalho de Richards *et al.* (2015). Além disso, utilizou-se a interface do *VarSome* (<https://varsome.com>).

Esse método é uma sequência de etapas com informações que devem ser levantadas para cada tipo de variante após extensa revisão da literatura e dos bancos de dados. Como

exemplo, tem-se o efeito na proteína, a frequência e tipos de variantes nos genes, a posição no transcrito e a presença e segregação na família.

Esses critérios são avaliados em conjunto. A probabilidade de a variante em questão ser patogênica é determinada pela combinação de tais algoritmos. Ao final, é gerada uma classificação de variantes, sendo uma das cinco categorias a seguir: “patogênica”, “provavelmente patogênica”, “significado incerto”, “provavelmente benigno” ou “benigno” com mais de 90% de certeza de uma variante ser causadora de doença ou benigna.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização Clínica, Bioquímica e Imagem

4.1.1 *Probando*

O probando, indivíduo III.6 da família estudada (Figura 10), 13 anos de idade, natural de Montes Claros – MG e procedente de Santa Luzia – MG, Brasil, foi encaminhado para atendimento especializado em endocrinologia por alteração da função tireoidiana. Compareceu à consulta acompanhado pela mãe, que relatou quadro de hiperatividade e déficit de atenção, já em acompanhamento com psiquiatra.

Durante a consulta, a mãe acrescentou que o paciente apresentava desempenho escolar insuficiente, uma vez que não consegue acompanhar a turma e não sabe ler nem escrever. Fazia acompanhamento para TDAH com psiquiatra e neurologista, estava em uso de metilfenidato, atensina, sertralina e risperidona.

Além disso, apresentou atraso de fala e de desenvolvimento motor, segundo a mãe, normalizado aos 3 anos. Ao exame físico, o paciente apresentava taquicardia (FC 110 bpm), peso: 50 Kg, altura: 171 cm (dentro do alvo familiar), não apresentava bócio, normotenso, púbere (A3G4P4).

O paciente apresenta TSH não suprimido e T4 e T3 livres aumentados (Tabela 4). As dosagens séricas de TSH, T4 e T3 livres foram repetidas e a alteração foi confirmada. Foram solicitados também marcadores de doença tireoidiana autoimune, antiperoxidase (anti-TPO) e anticorpos anti-receptor de TSH (TRAB): ambos negativos.

Assim, foram levantadas duas hipóteses diagnósticas: síndrome de resistência ao hormônio tireoidiano ou adenoma hipofisário produtor de TSH. Foram, então, realizados marcadores para auxiliar no diagnóstico diferencial, tais como ferritina, SHBG, subunidade alfa, perfil lipídico. Esses exames não mostraram alterações (Tabela 4), o que corrobora com o diagnóstico de RHT β .

A ultrassonografia de tireoide mostrou a glândula de tamanho normal, apresentando dois pequenos nódulos mistos. Foi também solicitada radiografia de mão e punho esquerdo, que mostrou idade óssea compatível com a idade cronológica e RNM de sela túrcica, que mostrou hipófise normal (Tabela 4).

Tabela 4 - Exames realizados para diagnóstico diferencial entre RHT β e adenoma hipofisário produtor de TSH

EXAMES	RESULTADO	Valor de referência
TSH	3,410	0,47 a 5,94 microUI/ml
T4L	2,7	0,92 a 1,49ng/dL
T3L	6,20	3,0 A 4,7 ng/dL
Subunidade alfa	164	120 a 790 ng/L
Ferritina	89,8	22 a 322 ng/ml
SHBG	46,2	21,6 a 113,1 nmol/l
Perfil Lipídico	CT: 135/ HDL 51/ LDL 73/ TG 75	CT (<170 mg/dl)/ HDL (>45 ng/dl)/ LDL (<110 ng/dl)/ TG (<100 mg/dl)
Idade Óssea	compatível com idade cronológica	
US tireoide	Sem bócio 02 nódulos	
Ressonância Magnética da Sela Túrcica	Ausência de alterações estruturais hipofisária de significado patológico	

Legenda: Exames realizados para diagnóstico diferencial entre RHT β e adenoma hipofisário produtor de TSH. TSH= hormônio estimulador da tireoide; T4L= fração livre da tiroxina; T3= fração livre da triiodotironina; SHBG= globulina ligadora de hormônios sexuais; CT= colesterol total; HDL= lipoproteína de alta intensidade; LDL= lipoproteína de baixa intensidade; TG= triglicérides.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.1.2 Membros da família

a) Irmãos e Pais

As irmãs e os pais do caso índice foram os primeiros membros da família avaliados. Encontradas alterações em exames laboratoriais compatíveis com resistência ao hormônio tireoidiano, ou seja, TSH não suprimido e T4L alto, nos exames da mãe (II.6), 31 anos, e da irmã (III.8), 2 anos. A irmã (III.7), 9 anos, e o pai do probando (II.5), 32 anos, não apresentaram alterações laboratoriais (Tabela 5).

A mãe apresenta diagnóstico de Transtorno de Ansiedade Generalizada, em uso de inibidores seletivos de recaptção de serotonina, sem outras comorbidades relatadas. Não apresenta bócio e taquicardia. Sem história pregressa de abortos. A irmã (III.7) apresenta bom desempenho escolar, sem comorbidades conhecidas e sem alterações no exame físico. A irmã (III.8) apresenta quadro de irritabilidade, insônia e agitação, em acompanhamento com psiquiatra, ainda sem diagnóstico definido, faz uso de metilfenidato. Não apresenta bócio nem taquicardia.

Além do exame laboratorial, os familiares (II.6), (III.7) e (III.8) foram estudados com exame de imagem (ultrassom de tireoide) para avaliar a presença de bócio. O ultrassom de tireoide dos familiares foi sem alterações.

Tabela 5 - Dados clínico-laboratoriais dos indivíduos estudados (pais e irmãs)

Paciente	Idade (anos)	TSH (microUI/ml)	T4L (ng/dL)	FC (bpm)	Bócio/ Ultrassom de Tireoide	TDAAH
II.5	32	0,600	0,73	NA	NA	NÃO
II.6	31	1,201	2,14	80	NÃO/ Volume: 7,7 cc/ ausência de nódulos	NÃO
III.7	9	2,092	1,15	98	NÃO/ Volume: 2,62 cc/ ausência de nódulos	NÃO
III.8	2	2,022	2,12	110	NÃO/ Volume: 1,9 cc/ ausência de nódulos	Em investigação

Legenda: TSH= hormônio estimulador da tireoide (VR adultos 0,48 a 5,60 microUI/ml, crianças de 2 a 12 anos 0,70 a 6,55 microUI/ml, 13 a 18 anos 0,47 a 5,94 microUI/ml); T4L= fração livre da tiroxina (VR adultos 0,85 a 1,50 ng/dL, crianças 2 a 12 anos 0,92 a 1,49 ng/dL, 13 a 18 anos 0,92 a 1,49 ng/dL), FC= frequência cardíaca (VR 3 meses a 18 anos 100 a 190 batimentos por minuto, 2 a 10 anos 60 a 140 batimentos por minuto, acima de 10

anos/adultos 60 a 100 batimentos por minuto). NA= Não Avaliado. TDAH= Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade. Em negrito, indivíduos que apresentaram exames laboratoriais compatíveis com RHT β .

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

b) Tios, primos e avós

Posteriormente à avaliação dos pais e irmãs, foi realizada a avaliação dos tios, primos e avós. Já que a alteração laboratorial compatível com RHT β foi encontrada na mãe, foi realizado estudo na família materna. A avó do probando, indivíduo I.2 (Figura 10), não apresentou alteração em exames laboratoriais, já o avô, indivíduo I.1, apresentou TSH normal e T4L alto (Tabela 6). O avô, 61 anos, mora na zona rural de Montes Claros e não frequenta serviço médico, portanto, não apresenta outras comorbidades conhecidas. Ao exame físico no momento da coleta do material para análise molecular, percebeu-se sem bócio à palpação tireoidiana.

O tio, indivíduo II.1, não apresentou alteração em exames laboratoriais compatíveis com RHT β , porém, como a sua filha, prima do probando, indivíduo III.3, 1 ano, apresentou TSH normal e T4L alto (Tabela 6), optou-se por sequenciar pai e filha, já que se trata de doença autossômica dominante. Clinicamente os indivíduos II.1 e III.3 são assintomáticos e não apresentam bócio ao exame clínico.

Em relação a outras comorbidades, o indivíduo II.1 apresenta diagnóstico de miopia em acompanhamento com oftalmologista. A tia do probando, indivíduo II.3 (Figura 10), 34 anos, apresenta hipotireoidismo subclínico nos exames laboratoriais (Tabela 6), ou seja, TSH pouco aumentado com T4L normal, o que não caracteriza laboratorialmente RHT β e não possui outras comorbidades conhecidas.

Já os primos do probando, indivíduos III.4 e III.5 (Figura 10), 14 e 6 anos respectivamente, apresentam alteração laboratorial compatível com RHT β . Ambos os indivíduos apresentam desenvolvimento escolar insuficiente e não sabem ler nem escrever, estão em investigação para TDAH. O indivíduo III.5 apresenta quadro de irritabilidade e agressividade, em acompanhamento com psiquiatra, faz uso de metilfenidato, ainda sem diagnóstico definido. Além disso, apresentou atraso de fala, sendo normalizado aos 4 anos.

Antes de chegar ao serviço deste estudo, os indivíduos III.4 e III.5 foram atendidos por equipe médica da região onde residem, Januária-MG, e realizaram tomografia de crânio como um dos exames para auxiliar no diagnóstico diferencial da doença. Apesar de não ser o exame de imagem de escolha, pela logística, foi o exame possível, e não mostrou alterações. Clinicamente os indivíduos II.3, III.4 e III.5 não apresentam bócio.

O material dos indivíduos II.8 e III.9 (Figura 10) também foi sequenciado. O indivíduo II.8, 29 anos, apresenta diagnóstico de esquizofrenia em acompanhamento com psiquiatra, realizou os exames laboratoriais durante internação psiquiátrica, ou seja, exame coletado de forma inapropriada, o que pode justificar o achado de T4L pouco abaixo do valor de referência. O indivíduo III.9, 11 anos, não apresenta comorbidades conhecidas, não apresenta fenótipo clínico de RHT β e não realizou exames laboratoriais por negativa do responsável.

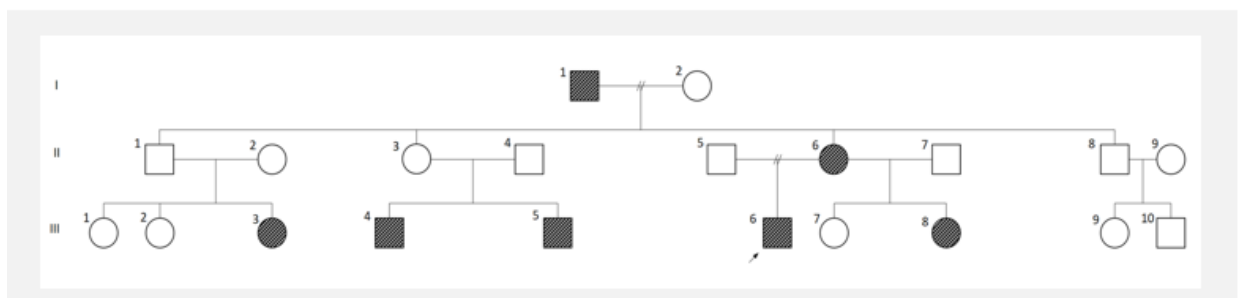
Tabela 6 - Dados clínico-laboratoriais dos indivíduos estudados (primos/tios/avós)

Paciente	Idade (anos)	TSH (microUI/ml)	T4L (ng/dL)	T3T (ng/mL)	Bócio (exame clínico)	TDAH
I.1	61	1,82	1,99	2,01	NÃO	NÃO
I.2	56	2,23	1,12	1,23	NÃO	NÃO
II.1	39	0,773	1,45	NA	NÃO	NÃO
II.3	34	6,65	1,16	1,09	NÃO	NÃO
II.8	29	2,80	0,84	NA	NÃO	NÃO
III.3	2	1,368	2,05	NA	NÃO	NA
III.4	14	7,05	1,93	2,69	NÃO	Em investigação
III.5	6	2,35	2,17	2,23	NÃO	Em investigação
III.9	11	NA	NA	NA	NÃO	NÃO

Legenda: TSH= hormônio estimulador da tireoide (VR adultos 0,48 a 5,60 microUI/ml, crianças de 2 a 12 anos 0,70 a 6,55 microUI/ml, 13 a 18 anos 0,47 a 5,94 microUI/ml); T4L= fração livre da tiroxina (VR adultos 0,85 a 1,50 ng/dL, crianças 2 a 12 anos 0,92 a 1,49 ng/dL, 13 a 18 anos 0,92 a 1,49 ng/dL); T3T= triiodotironina total (VR 0,60 a 1,81 ng/mL) NA= Não Avaliado. TDAH= Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade. Em negrito, indivíduos que apresentaram exames laboratoriais compatíveis com RHT β .

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 10 - Heredograma Fenotípico



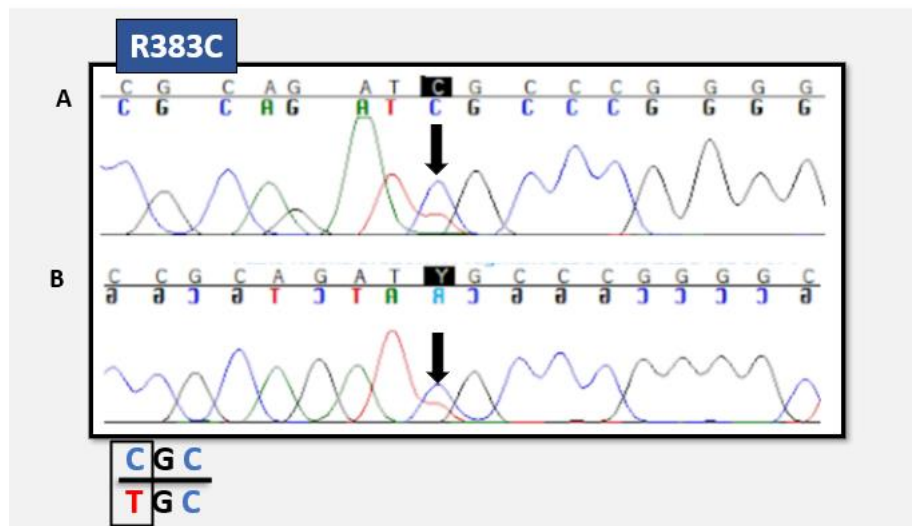
Legenda: Heredograma Fenotípico. Os fenótipos dos pacientes membros da família foram caracterizados a partir de história clínica, exame físico, exames bioquímicos e exame de imagem. Todos os indivíduos marcados em preto apresentam alteração em exames bioquímicos compatíveis com RHT β . A seta indica o probando.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

c) Caracterização Molecular

Inicialmente foi realizada no caso índice a amplificação dos éxons 8, 9, 10 e 11 do gene *THRB*. O sequenciamento do produto de PCR mostrou a presença de uma mutação “missense” (CT) em heterozigose, no éxon 11 do gene do TR β (Figura 11 A e B), cuja consequência é a troca da Arginina 383 por uma Cisteína (R383C), *rs1559388949*. Além disso, nesse mesmo gene, encontrou-se um polimorfismo no íntron 10 (*rs13063628*), como demonstrado na Figura 12.

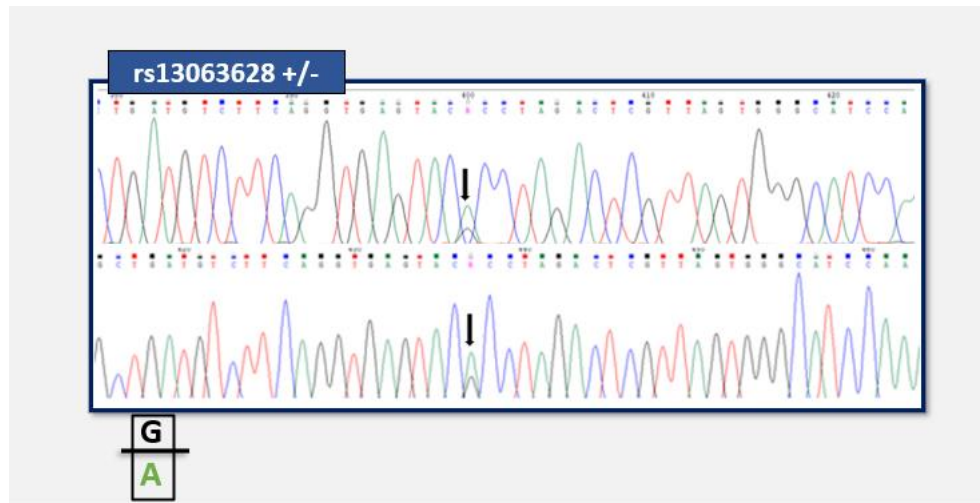
Figura 11 - Eletroferograma do éxon 11 evidenciando a mutação (R383C)



Legenda: Eletroferograma do éxon 11 evidenciando a mutação (R383C), indicada pelas setas. A) Sequenciamento do produto de PCR no sentido senso; B) Sequenciamento do produto de PCR no sentido antissenso. Destacado em preto no eletroferograma o local da substituição. Abaixo do eletroferograma, o códon de referência (superior) e o contendo a alteração (inferior).

Fonte: Registrado pelo autor, com o programa Sequencher v.4.9 (2022).

Figura 12 - Eletroferograma evidenciando alteração intrônica



Legenda: Eletroferograma evidenciando alteração intrônica (*rs13063628* indicada pelas setas) envolvendo a troca de uma guanina por uma adenina, em heterozigose (+/-), localizada a 9 nucleotídeos após o éxon 10. A) Sequenciamento do produto de PCR no sentido senso; B) Sequenciamento do produto de PCR no sentido antissenso. Abaixo, a base superior corresponde à referência, e a inferior, à alterada.

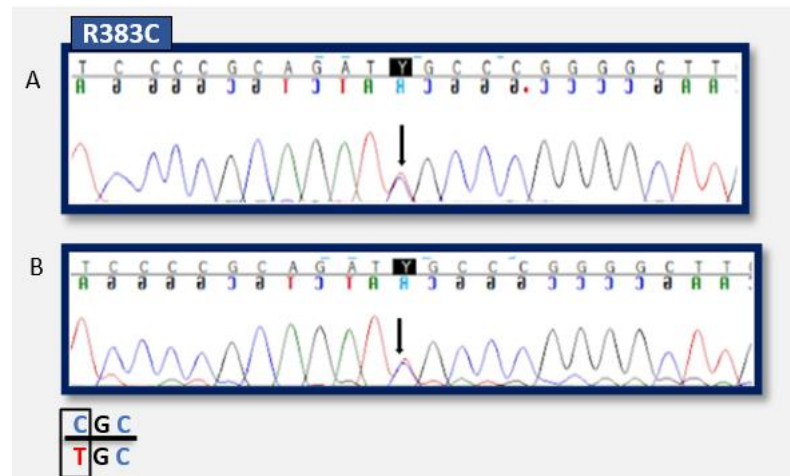
Fonte: Registrado pelo autor, com o programa Sequencher v.4.9 (2022).

Posteriormente, foi realizada a amplificação e sequenciamento do éxon 11 do gene *THRβ* dos indivíduos (I.1), (II.6), (III.7) e (III.8). Foi encontrada a mutação R383C, mesma mutação do caso índice, nos indivíduos (I.1), (II.6) e (III.8). No indivíduo (III.7) não foi encontrada essa mutação.

Considerando que RHT β é uma doença autossômica dominante, avaliou-se a mesma região no DNA dos indivíduos (II.1), (II.3), (II.8), (III.3), (III.4) e (III.5) e (III.9). Foi encontrada a mutação R383C, mesma mutação do probando, nos indivíduos (II.1), (III.3) (Figura 13) e nos indivíduos (II.3), (III.4), (III.5) (Figura 14). Nos indivíduos (II.8) e (III.9) não foi encontrada a mutação (Figura 15).

A Genealogia da família portadora de RHT β foi esquematizada na Figura 16 para representar os indivíduos afetados pela mutação R383C e para melhor diferenciar aqueles que apresentam apenas o genótipo daqueles que apresentam genótipo e fenótipo laboratorial.

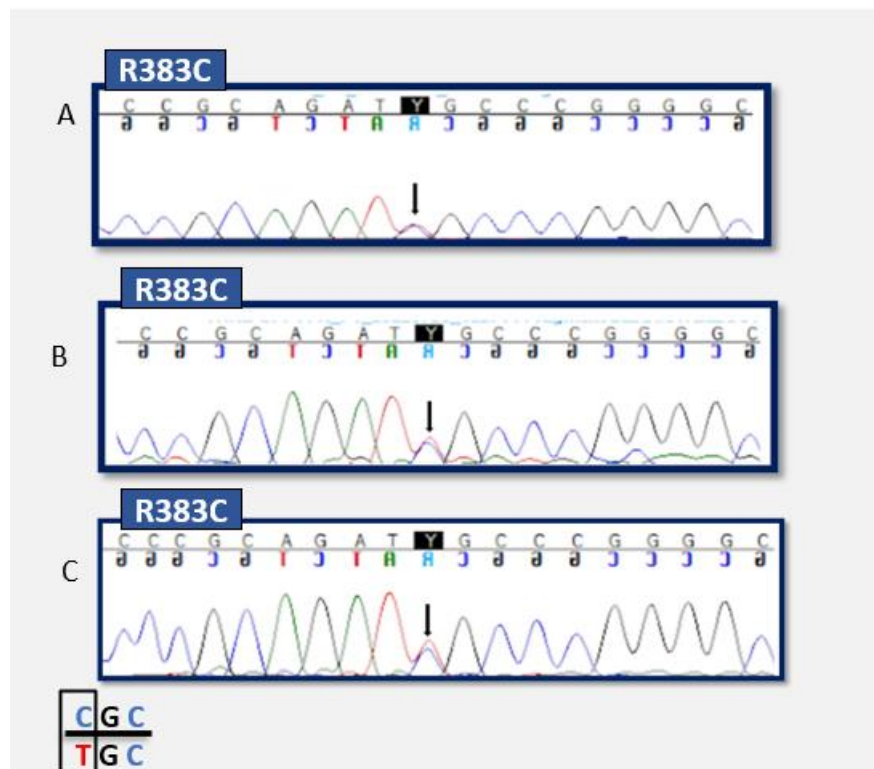
Figura 13 - Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.1 e III.3



Legenda: Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.1 (A) e III.3 (B). Seta indica mutação R383C no éxon 11 do gene *THRB*, em heterozigose. Abaixo do eletroferograma, o códon de referência (superior) e o contendo a alteração (inferior).

Fonte: Registrado pelo autor, com o programa Sequencher v.4.9 (2022).

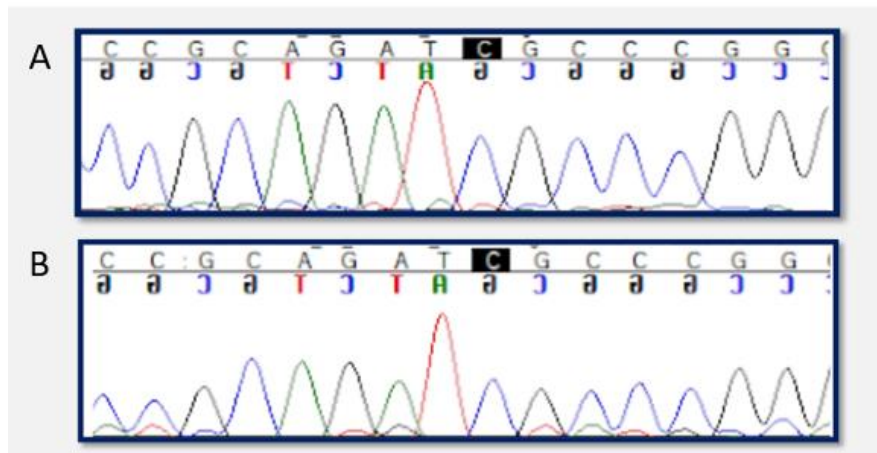
Figura 14 - Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.3, III.4 e III.5



Legenda: Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.3 (A), III.4 (B) e III.5 (C) Seta indica mutação R383C no éxon 11 do gene *THRB*, em heterozigose. Abaixo do eletroferograma, o códon de referência (superior) e o contendo a alteração (inferior).

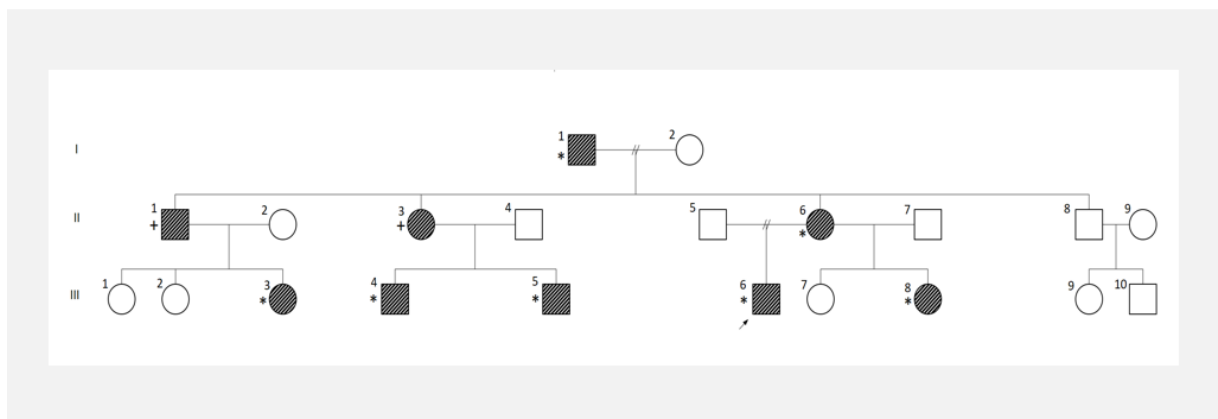
Fonte: Registrado pelo autor, com o programa Sequencher v.4.9 (2022).

Figura 15 - Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.8 e III.9



Legenda: Figura 15. Eletroferogramas representativos dos indivíduos II.8 (A) e III.9 (B). Ausência de mutação.
Fonte: Registrado pelo autor, com o programa Sequencher v.4.9 (2022).

Figura 16 - Genealogia da família portadora de RTH β



Legenda: Genealogia da família portadora de RTH β . Autoformas negras representam indivíduos afetados; autoformas em branco indicam indivíduos não afetados; * indivíduos com genótipo (mutação R383C) e com fenótipo laboratorial compatível com RTH β ; + indivíduos apenas com genótipo sem fenótipo laboratorial compatível com RHT β ; seta indica o probando.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.2 Estudo e classificação das variantes

A avaliação das amostras da família portadora de RHT β a partir de sequenciamento de Sanger realizado no presente trabalho apresentou duas variantes do gene *THR β* com potencial de estarem envolvidas na fisiopatologia da síndrome. Após a identificação das variantes no gene supracitado, foram realizados estudo e classificação das variantes, conforme os critérios e diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics ACMG*, utilizando a interface do *VarSome* (item 3.9.1).

4.2.1 Probando/Família – ACMG/VarSome

Em relação à análise do sequenciamento do probando, foram encontradas duas variantes: uma “patogênica” e outra “benigna” (Tabela 7). A variante patogênica com mais interesse de estudo pelo potencial de causar a doença foi encontrada em parte dos familiares. A descrição detalhada das informações, obtidas por meio da análise do *VarSome* (<https://varsome.com>), revisão bibliográfica na literatura (PUBMED) e no ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) encontra-se na Tabela 8.

A análise da literatura mostra que essas variantes já foram relacionadas à resistência ao hormônio tireoidiano (Tabela 8), porém a *rs13063628* demonstrou ser uma variante benigna, enquanto a variante *rs1559388949* foi classificada como patogênica. A análise de predição *in silico* para a variante patogênica foi realizada em 3 bancos de dados: PolyPhen 2, SIFT e Provean. Os resultados demonstraram que essa variante tem grande probabilidade de afetar a estrutura e a função da proteína (Tabela 9).

Tabela 7 - Variantes encontradas no estudo

Chr	Gene	Posição	rs	c.DNA	Proteína	Classificação ACMG (VarSome)
3	<i>THRB</i>	24123123	1559388949	c.1147 C>T	p.Arg383Cys	Patogênica
3	<i>THRB</i>	24127490	13063628	c.1144+9 G>A	-----	Benigna

Notas: Variantes observadas no probando e nos familiares indivíduos portadores de RTH β . Símbolo - - - - (região intrônica, não codificante).

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

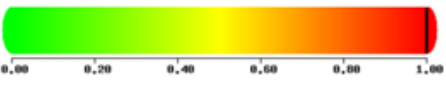
Tabela 8 - Descrição da classificação das variantes encontradas no probando

Variante	Frequência gnomAD Genomes	Classificação ClinVar	Publicações	Classificação ACMG (VarSome)		
				Geral	Regra	Significado
rs13063628	f=0.118	Benigna	Resistência ao hormônio tireoidiano (Sørensen et al., 2008)	Benigna	BA1	Frequente no GnomAD exomes f = 0.109
					BP6	Classificada como benigna no Clinvar
					BP4	Predição em programas: Benigna PolyPhen / Sem predição patogênica
rs1559388949	Variant not found	Significado Incerto	Resistência ao hormônio tireoidiano (Hayashi et al., 1994) (Margotat et al., 2001) (Owen et al., 2009) (Narumi et al., 2010) (Mitchell et al., 2010) (Uter et al., 2020)	Patogênica	PM2	A posição é fortemente conservada (phyloP100way = 10.003/ Não presente GenomaAD
					PM1	Variante em região de domínio crítico proteico
					PM5	Variante alternativa é classificada como patogênica (Arg383His)
					PP2	101 das 107 variantes missense não-VUS no gene THRB são patogênicas = 94,4
					PP3	Predição em programas: Patogênica (DANN, EIGEN, FATHMM-MKL, LIST-S2, M-CAP, MutationAssessor, MutationTaster, PrimateAI, REVEL e SIFT)/ Benigna : sem predição

Legenda: VUS= variante de significado indeterminado, f= frequência.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tabela 9 - Predição *in silico* das alterações

Alteração	Diagrama	Pontuação		
		PolyPhen	SIFT	Provean
R383C (<i>THRB</i>)		Prováveis Danos (1.000)	Afeta a proteína (0,00)	Deletéria (-6.83)

Legenda: Alteração, diagrama gerado pelo PolyPhen 2 e pontuação das três ferramentas de predição.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

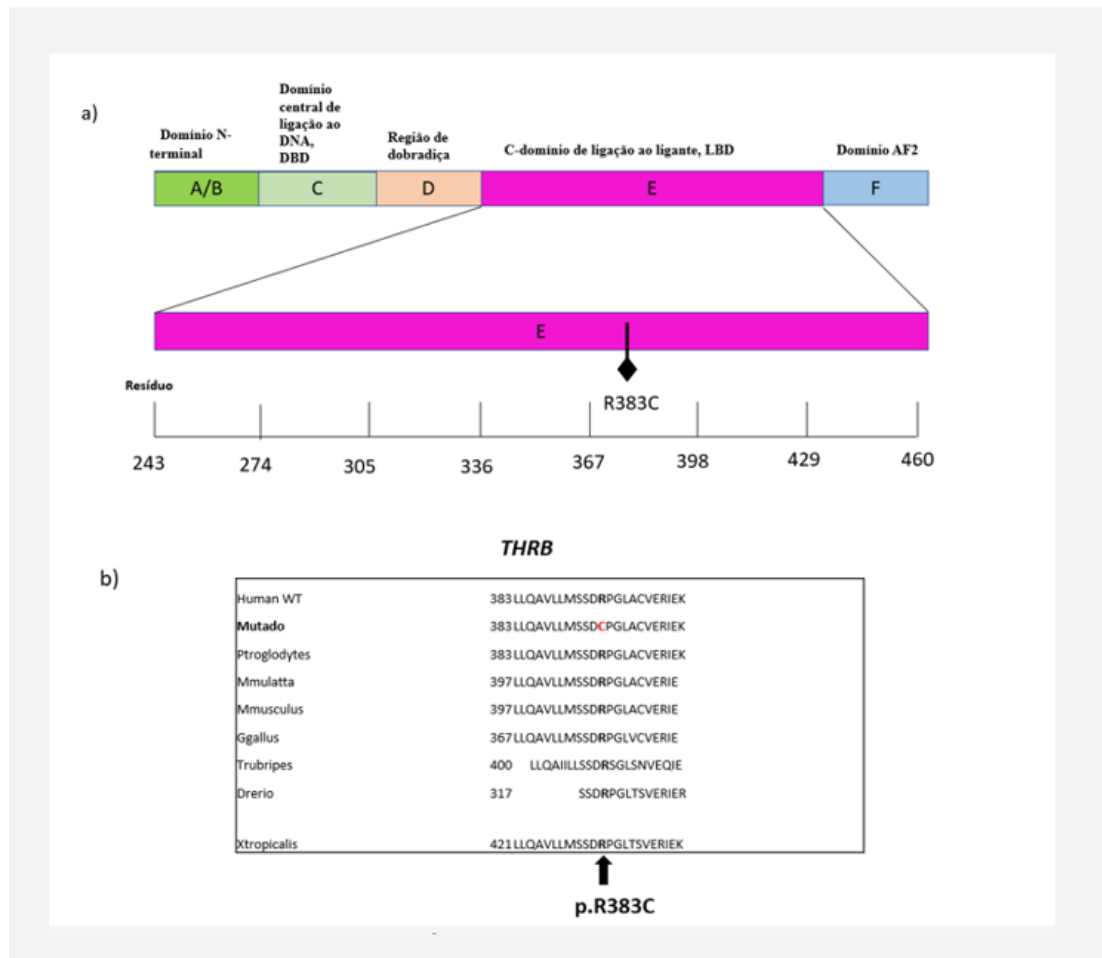
4.3 Predição de patogenicidade da proteína *THRB* e análise *in silico*

4.3.1 Proteína *THRB*

A mutação c.1147C>T (p.Arg383Cys) localiza-se entre a décima sexta e décima sétima alfa-hélices na proteína *THRB* (Figura 17a), em um aminoácido altamente conservado entre as espécies (Figura 17b). O aminoácido selvagem arginina possui uma estrutura maior (Figura 18a) e caráter alcalino, já o aminoácido cisteína é menor e apresenta caráter neutro (18b). Essa substituição pode perturbar a estrutura do sítio de ligação do hormônio T3, como foi visto em outras mutações no mesmo domínio.

Para ilustrar a diferença e avaliar a alteração na interação molecular induzida pela troca de aminoácidos, foram construídos modelos da proteína *THRB* selvagem e mutada usando *Swiss Model Expaty web server* (WATERHOUSE *et al.*, 2018). Assim, foi possível perceber que a troca de arginina para cisteína altera a estrutura da proteína (Figura 18).

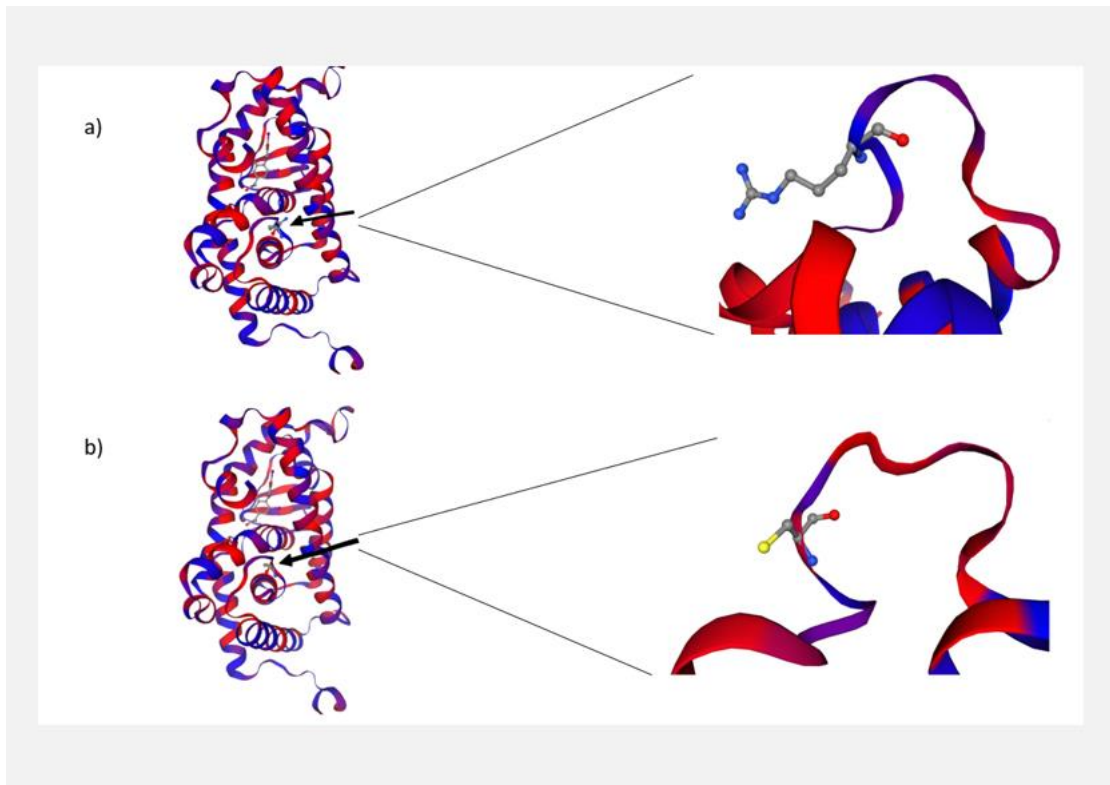
Figura 17 - Efeitos do resíduo alterado na proteína THRB



Legenda: (a) - Esquema dos domínios de *THRB* com a localização do resíduo variante. A posição da variante R383C detectada é representada por um diamante. (b) – Alinhamentos de sequências mostrando homologia entre o domínio topológico da proteína *THRB* de diferentes espécies (*H. sapiens*, *P. troglodytes*, *M. mulatta*, *M. musculus*, *Ggallus*, *Trubripes*, *Drerio*, *Xtropicalis*), destacando a conservação do resíduo variante R383C (em negrito).

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 18 - Modelo da estrutura do sítio ativo de THRB



Legenda: (a) - Modelo da estrutura do sítio ativo de *THRB* mostrando, no tipo selvagem, a região que engloba o resíduo Arg383. À direita, destaca-se em maior aumento essa região. (b) Modelo da estrutura do sítio ativo de *THRB* mostrando a alteração de Arg383Cys. À direita, destaca-se em maior aumento essa região. (ID da base de dados de proteínas: 1xzx.1).

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

5 DISCUSSÃO

RHT β é uma doença rara, sendo que uma das características é o fenótipo bastante heterogêneo dentro de uma mesma família apresentando a mesma variante patogênica (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019). Assim, os casos familiares são um ponto de partida interessante para buscar variantes, que podem ocorrer em todo o contexto familiar e elucidar a fisiopatogênese da síndrome, além da correlação fenótipo/genótipo.

O presente trabalho descreve nove indivíduos afetados de uma família brasileira portadora de RHT β . Foram realizados doze testes para análise molecular do total de dezesseis pacientes participantes do estudo. Desses pacientes analisados com teste genético, sete apresentaram fenótipo laboratorial e genótipo correspondente para a resistência ao hormônio tireoidiano beta. Dois deles apresentaram apenas o genótipo e três não apresentaram o fenótipo, nem genótipo para a resistência.

Inicialmente, no estudo molecular do caso índice, foram encontradas duas variantes, ambas localizadas no gene *THRB*, já descrito na literatura como associado à síndrome (PAPPA; REFETOFF, 2018). A variante R383C (*rs1559388494*) é classificada como patogênica; e a variante *rs13063628* é classificada como benigna pelos critérios e diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics ACMG*, utilizando a interface do *VarSome*.

Uma vez que a variante benigna não tem potencial de causar doença, optou-se por estudar nessa família apenas a variante patogênica. Entretanto, a variante intrônica encontrada neste estudo (*rs13063628*), segundo investigação realizada por Sørensen *et al.* (2008), pode estar relacionada a níveis séricos elevados de TSH, sem outros achados relevantes encontrados até o momento.

A mutação patogênica encontrada na família analisada, variante R383C (*rs1559388494*), é uma mutação *missense* em heterozigose. Segundo Concolino, Costella e Paragliola (2019), que listaram 172 variantes encontradas no gene *THRB*, 88% são variantes *missenses*. Além disso, com base em informações coletadas, 156 variantes *THRB* têm um papel patogênico. Nesse mesmo estudo, o maior número de variantes no gene *THRB* foi encontrado no éxon 11 – mesmo éxon da alteração identificada nesta pesquisa.

O resíduo R383C encontra-se no domínio de ligação ao ligante (LBD), uma região de extrema importância para a funcionalidade da proteína. Nessa região encontra-se o maior

número de variantes, ou seja, é onde os *hotspots* estão em maior quantidade (HAYASHI *et al.*, 1994).

No resíduo R383, a troca pode ser de arginina para cisteína, que é o achado deste estudo, ou de arginina para histidina. Safer *et al.* (1999) fizeram estudo detalhado para avaliar as características clínicas de um indivíduo portador de RHT β e da mutação R383H. Foi realizado, então, estudo fisiológico para avaliar a sensibilidade central e periférica ao hormônio tireoidiano.

Safer *et al.* (1999) concluíram que, embora o indivíduo afetado sofresse profunda resistência hormonal tireoidiana centralmente, ele apresentava sensibilidade periférica, justificando, assim, os dados clínicos apresentados por ele. É interessante que o indivíduo afetado apresentava, assim como o caso índice deste estudo, quadro de palpitações, além de ansiedade. Pode-se extrapolar que, por se tratar de uma variante patogênica no mesmo códon da mutação deste estudo, é possível que o caso índice desta pesquisa também apresente RHT β central.

A variante R383H é classificada como provavelmente patogênica pelos critérios e diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), utilizando a interface do *VarSome*. Outra variante encontrada no domínio de ligação ao ligante (LBD) é a substituição S350L, que, em modelo cristalográfico *in silico*, previu que a proteína mutada é menos estável que a selvagem, possivelmente afetando a função do receptor tireoidiano (NAGAVALLI *et al.*, 2014).

O aminoácido do tipo selvagem na posição R383 em *THRB* é conservado entre as espécies, fato que demonstra sua relevância evolutiva. Além disso, é interessante notar que a variante observada nesse gene é rara na população geral, demonstrando que pode estar relacionada a sujeitos menos adaptados no âmbito biológico.

A variante patogênica R383C foi relacionada a outras três famílias em outros estudos. Margotat *et al.* (2001) descreveu duas famílias francesas, uma delas relacionada, fenotipicamente, ao bócio ao RHT β ; e a outra apresentava quadro de irregularidade menstrual e de infertilidade. Narumi *et al.*, em 2010, descreveram uma família japonesa na qual o caso índice inicialmente realizou exames da função tireoidiana por dificuldade de ganho ponderal. No momento do diagnóstico, ele não apresentava outros sintomas relacionados a RHT β , porém apresentou atraso de fala (falou com 1 ano e 6 meses), com normalização aos 3 anos. O pai do caso índice, também afetado, apresentou atraso de fala na infância, que foi normalizado posteriormente, sem outros fenótipos relacionados (NARUMI *et al.*, 2010).

É possível, a partir disso, perceber semelhanças entre o fenótipo apresentado pela família japonesa e os dados fenotípicos da família do presente estudo, já que o probando e um primo apresentaram atraso de fala, sendo também normalizado posteriormente. Até o momento, a maior família descrita com RHT β , associada à variante R383C, é a deste estudo. Já a maior família relatada na literatura, relacionada a RHT β , é composta por 36 indivíduos afetados pela variante G344A, localizada no gene *THRB*. Vale ressaltar que, nesta última família, o fenótipo mais comum foi o retardo de crescimento e apenas um indivíduo afetado foi diagnosticado com TDAH (KVISTAD *et al.*, 2004). Esse achado contrasta com o visto neste estudo, que apresentou como fenótipo clínico predominante o TDAH.

A família investigada nesta pesquisa apresenta fenótipo bastante heterogêneo. Dentre os nove indivíduos afetados, cinco são clinicamente assintomáticos, desses, dois não apresentam fenótipo clínico nem laboratorial. Quatro são sintomáticos, sendo um, o probando, com diagnóstico firmado de TDAH; e outros três em investigação. Embora a maioria dos indivíduos heterozigotos tenha apresentado alterações nas dosagens hormonais tireoidianas, dois membros afetados têm níveis circulantes de HTs normais, mais um dado que ilustra a variabilidade fenotípica da doença, corroborando, assim, com os dados disponíveis na literatura (CONCOLINO; COSTELLA; PARAGLIOLA, 2019).

As justificativas descritas para a clínica variável em indivíduos de uma mesma família e portadores da mesma mutação são várias. Uma delas é o grau de compensação à reduzida sensibilidade ao HT, que é distinta nos diferentes tecidos (MCKENNA; O'MALLEY, 2002; PAPPÀ; REFETTOFF, 2018). Outra explicação é que as características clínicas podem ser decorrentes da manifestação tecido-específica do hormônio tireoidiano durante estágios precoces do desenvolvimento. A gravidade dos sintomas está relacionada à expressão relativa do alelo mutante e dos cofatores de forma tecido específica (MCKENNA; O'MALLEY, 2002; CARVALHO; RAMOS, 2004).

A penetrância da doença entre os carreadores de mutações do presente estudo é, até o momento, 77,7% (nove carreadores, sete clinicamente afetados). Na revisão de literatura realizada, nenhum trabalho mostrou diretamente o dado de penetrância nas famílias estudadas até então, conforme busca realizada nas bases de dados do PubMed e *ScienceDirect*.

Nesta pesquisa, o fenótipo clínico mais prevalente é o TDAH. Fenótipo esse sabidamente prevalente na população portadora de RHT β (PAPPÀ; REFETTOFF, 2018). Hauser *et al.* (1993) estudaram 18 famílias com história de RHT β . Em seu estudo, um total de 49 familiares afetados e 55 familiares não afetados foram avaliados com questionários psiquiátricos, e o número de sintomas de TDAH foi calculado para cada indivíduo. Dessa

população, 52 eram adultos e 52 eram crianças. De acordo com o estudo, TDAH está presente em metade das crianças afetadas.

Nessa mesma pesquisa, os autores presumiram que, em indivíduos afetados com resistência ao hormônio tireoidiano, a proteína TR β mutante compete com a proteína TR β selvagem de forma dominante negativa e, assim, regula negativamente a função do neurotransmissor catecolamina. Nesse mesmo estudo, Hauser *et al.* (1993) propuseram que essa regulação negativa, em conjunto com os efeitos irreversíveis de um gene TR β mutante no desenvolvimento do cérebro na vida fetal, pode ser uma das causas dos sintomas de TDAH nessa população.

Neste trabalho, os indivíduos com RHT β e diagnóstico já firmado de TDAH (probando), bem como os indivíduos em investigação para TDAH (primos afetados), apresentam desempenho escolar insuficiente e não conseguem acompanhar a turma em relação à leitura, à escrita e à interpretação de textos.

Em consonância com os achados desta investigação, um estudo realizado por Stein, Weiss e Refetoff (1995) avaliou, entre outros fatores, o desempenho escolar dos pacientes portadores de RHT β e TDAH e comparou os achados a um grupo com diagnóstico de TDAH sem RHT β . Os pesquisadores concluíram que, embora as crianças com RHT β tenham características comportamentais semelhantes às com TDAH, apresentam habilidades significativamente reduzidas de organização e menor desempenho escolar, sugerindo, assim, comprometimento neurocomportamental mais grave do que o TDAH (STEIN; WEISS; REFETOFF, 1995).

Posteriormente, outro estudo, desenvolvido por McDonald *et al.* (1998), também avaliou questões relacionadas ao *déficit* cognitivo. A partir de uma análise *in vivo*, foram testados camundongos transgênicos RHT β , que foram comparados com camundongos do tipo selvagem em tarefas comportamentais projetadas para avaliar algumas características sabidamente prejudicadas em indivíduos com TDAH, como atividade, atenção, aprendizado e impulsividade. O resultado do estudo evidenciou que, tanto camundongos transgênicos fêmeas quanto machos, apresentaram o aprendizado inadequado, em comparação com controles do tipo selvagem.

Outro estudo que explorou a relação entre RHT β e TDAH foi o de Uter *et al.* (2020). Esses pesquisadores avaliaram semelhanças fenotípicas de pacientes portadores da resistência ao hormônio tireoidiano com TDAH por meio de um estudo caso-controle, com avaliação eletrofisiológica. É interessante destacar que, no grupo dos indivíduos afetados, dois pacientes eram portadores da mutação R383C (*rs1559388494*) – a mesma identificada nesta pesquisa. O

resultado do grupo dos indivíduos afetados mostrou que o fenótipo eletrofisiológico dos portadores de RHT β , no que diz respeito ao monitoramento da ação, é indistinguível do TDAH.

Outra característica clínica identificada nos pacientes com a RHT β é a taquicardia – presente também no caso índice deste estudo. A taquicardia pode ser explicada pelo fato de que o hormônio da tireoide no miocárdio é principalmente dependente de TR α , que não foi envolvido em RHT β (CHATTERJEE, 2002).

Neste estudo os fenótipos clínicos apresentados foram TDAH e taquicardia. Apesar da grande maioria dos indivíduos afetados por RHT β serem assintomáticos, a população afetada pode apresentar outras características clínicas como bócio, perda auditiva, infecções recorrentes de ouvido, baixa estatura (OLATEJU; VANDERPUMP, 2006; PAPPA; REFETTOFF, 2021).

Neste estudo, descreveu-se uma grande família portadora de uma mutação relacionada a RHT β até então nunca descrita em uma família brasileira. Por se tratar de uma doença rara e de difícil diagnóstico, os dados para comparação de genótipo e avaliação fenotípica se limitam à própria família deste estudo no que tange ao continente Americano, sendo encontrados casos semelhantes apenas em outras populações.

Importante é destacar que a presente pesquisa se restringiu à análise de uma porção do gene *THRB*. Desse modo, avaliar outras variantes alélicas, também associadas à doença, seria de grande valia para complementar o estudo. Cumpre ainda salientar que estudos *in vitro* e *in vivo* forneceriam maiores achados com aplicação, inclusive, no campo terapêutico.

Toda a discussão traçada nesta pesquisa é de elevada importância, uma vez que o caso em tela se trata de uma doença rara, ainda sem tratamento específico. De toda forma, faz-se necessária a realização de mais estudos de base molecular para alcançar maiores avanços nesse âmbito.

6 CONCLUSÃO

Este estudo alcançou os objetivos almejados, haja vista que identificou variantes moleculares relacionadas à resistência ao hormônio tireoidiano beta, sendo a *rs1559388949* patogênica. Ademais, realizou a correlação fenótipo/genótipo relacionada à mutação encontrada, sendo esse um dado escasso na literatura.

De forma complementar, reforça-se a necessidade de mais abordagens diagnósticas no âmbito molecular para, assim, com mais estudos nessa área, auxiliar no esclarecimento da fisiopatologia da doença e também ampliar ferramentas para que, em uma perspectiva futura, um tratamento específico seja possível.

REFERÊNCIAS

- ANSELMO, João *et al.* Fetal loss associated with excess thyroid hormone exposure. **JAMA**, v. 292, n. 6, p. 691-695, 2004. <https://doi.org/10.1001/jama.292.6.691>.
- BARCOFF, Marla S. *et al.* Autoimmunity in patients with resistance to thyroid hormone. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 7, p. 3189-3193, 2010. doi: 10.1210/jc.2009-2179.
- BARRA, Gustavo B. *et al.* Molecular mechanism of thyroid hormone action. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 1, p. 25-39, 2004. doi: 10.1590/s0004-27302004000100005.
- BECK-PECCOZ, P. *et al.* 2013 European thyroid association guidelines for the diagnosis and treatment of thyrotropin-secreting pituitary tumors. **European Thyroid Journal**, v. 2, n. 2, p. 76-82, 2013. doi: 10.1159/000351007.
- BECK-PECCOZ, Paolo *et al.* Thyrotropin-secreting pituitary tumors. **Endocrine reviews**, v. 17, n. 6, p. 610-638, 1996. doi: 10.1210/edrv-17-6-610.
- BECK-PECCOZ, Paolo *et al.* TSH-secreting adenomas. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 23, n. 5, p. 597-606, 2009. doi: 10.1016/j.beem.2009.05.006. 19945025.
- BECK-PECCOZ, P. *et al.* Nomenclature of thyroid hormone receptor μ gene mutations in resistance to thyroid hormone: consensus statement from the First Workshop on Thyroid Hormone Resistance, 10–11 July 1993, Cambridge, UK. **Clinical endocrinology**, v. 40, n. 5, p. 697-700, 1994. doi: 10.1111/j.1365-2265.1994.tb03024.x.
- BIANCO, Antonio C.; KIM, Brian W. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 10, p. 2571-2579, 2006. doi:10.1172/JCI29812.
- BRENT, Gregory A. The molecular basis of thyroid hormone action. **New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 13, p. 847-853, 1994.
- BRIET, Claire *et al.* TR α mutations in human. **Thyroid Hormone Nuclear Receptor**, n.1801, p. 241-245, 2018. doi: 10.1007/978-1-4939-7902-8_19.

BRUCKER-DAVIS, F. *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**, v. 123, n. 8, p. 572-583, 1995. doi: 10.7326/0003-4819-123-8-199510150-00002.

CAMPI, Irene *et al.* Retinal photoreceptor functions are compromised in patients with resistance to thyroid hormone syndrome (RTH β). **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 102, n. 7, p. 2620-2627, 2017. doi: 10.1210/jc.2016-3671. 28379567.

CARVALHO, Gisah A. de; RAMOS, Helton E. Thyroid hormone resistance syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n.1, p. 83-92, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302004000100010>.

CARVALHO, Gisah Amaral; WEISS, Roy E. Resistance to Thyroid Hormone (RTH). *In*: **Encyclopedia of Endocrine Diseases**. University of Miami, 2004. p. 208-216.

CHATTERJEE, V.K. Síndrome de Resistência hormonal da Tireoide. *In*: WASS, J.A.H.; SHALET, S, M. (eds). **Oxford Textbook of Endocrinology**. Londres: Oxford University Press, 2002. p.339-49.

CHEN, J. Don; EVANS, Ronald M. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. **Nature**, v. 377, n. 6548, p. 454-457, 1995. doi: 10.1038/377454a0.

CHENG, Sheue-yann. Thyroid hormone receptor mutations and disease: beyond thyroid hormone resistance. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 16, n. 4, p. 176-182, 2005. doi: 10.1016/j.tem.2005.03.008.

COHEN, Ronald N. *et al.* The nuclear corepressors recognize distinct nuclear receptor complexes. **Molecular Endocrinology**, v. 14, n. 6, p. 900-914, 2000. doi: 10.1210/mend.14.6.0474.

CONCOLINO, Paola; COSTELLA, Alessandra; PARAGLIOLA, Rosa Maria. Mutational landscape of resistance to thyroid hormone beta (RTH β). **Molecular Diagnosis & Therapy**, v. 23, n. 3, p. 353-368, 2019. doi: 10.1007/s40291-019-00399-w.

DKHISSI-BENYAHYA, Ouria *et al.* Modeling the role of mid-wavelength cones in circadian responses to light. **Neuron**, v. 53, n. 5, p. 677-687, 2007. doi: 10.1016/j.neuron.2007.02.005.

DULGEROFF, Anthony J. *et al.* Bromocriptine and Triac therapy for hyperthyroidism due to pituitary resistance to thyroid hormone. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 75, n. 4, p. 1071-1075, 1992.

FLORKOWSKI, C. M. *et al.* Thyroid hormone resistance: the role of mutational analysis. **Internal medicine journal**, v. 36, n. 11, p. 738-741, 2006. doi: 10.1111/j.1445-5994.2006.01189.x.

FURUYA, Fumihiko *et al.* Novel functions of thyroid hormone receptor mutants: beyond nucleus-initiated transcription. **Steroids**, v. 72, n. 2, p. 171-179, 2007. doi: 10.1016/j.steroids.2006.11.005.

GLASS, Christopher K. Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers. **Endocrine reviews**, v. 15, n. 3, p. 391-407, 1994. doi: 10.1210/edrv-15-3-391.

GLASS, Christopher K.; ROSENFELD, Michael G. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. **Genes & development**, v. 14, n. 2, p. 121-141, 2000.

GROENEWEG, S.; *et al.* Thyroid Hormone Transporters. **Endocrine reviews**. v.41, n.2, p.bnz008, 2020. doi: 10.1210/endrev/bnz008.

HAUSER, Peter *et al.* Attention deficit-hyperactivity disorder in people with generalized resistance to thyroid hormone. **New England Journal of Medicine**, v. 328, n. 14, p. 997-1001, 1993. doi: 10.1056/NEJM199304083281403.

HAYASHI, Y. *et al.* Mutations of CpG dinucleotides located in the triiodothyronine (T3)-binding domain of the thyroid hormone receptor (TR) beta gene that appears to be devoid of natural mutations may not be detected because they are unlikely to produce the clinical phenotype of resistance to thyroid hormone. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 94, n. 2, p. 607-615, 1994. doi: 10.1172/JCI117376.

HÖRLEIN, Andreas J. *et al.* Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. **Nature**, v. 377, n. 6548, p. 397-404, 1995. doi: 10.1038/377397a0.

HU, Xiao; LAZAR, Mitchell A. Transcriptional repression by nuclear hormone receptors. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, n. 1, p. 6-10, 2000. DOI: 10.1016/s1043-2760(99)00215-5.

KUROKAWA, R. *et al.* Differential orientations of the DNA-binding domain and carboxy-terminal dimerization interface regulate binding site selection by nuclear receptor heterodimers. **Genes & development**, v. 7, n. 7b, p. 1423-1435, 1993. doi: 10.1101/gad.7.7b.1423.

KVISTAD, Per H. *et al.* Retarded bone growth in thyroid hormone resistance. A clinical study of a large family with a novel thyroid hormone receptor mutation. **European journal of endocrinology**, v. 150, n. 4, p. 425-430, 2004. doi: 10.1530/eje.0.1500425.

LAFRANCHI, Stephen H. *et al.* Follow-up of newborns with elevated screening T4 concentrations. **The Journal of pediatrics**, v. 143, n. 3, p. 296-301, 2003. doi: 10.1067/S0022-3476(03)00184-7.

LAHIRI, Debomoy K.; NURNBERGER JR, John I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic acids research**, v. 19, n. 19, p. 5444, 1991. doi: 10.1093/nar/19.19.5444.

LAZAR, Mitchell A. Thyroid hormone receptors: multiple forms, multiple possibilities. **Endocrine reviews**, v. 14, n. 2, p. 184-193, 1993.

MACCHIA, Enrico *et al.* Clinical and genetic characteristics of a large monocentric series of patients affected by thyroid hormone (Th) resistance and suggestions for differential diagnosis in patients without mutation of Th receptor β . **Clinical endocrinology**, v. 81, n. 6, p. 921-928, 2014. doi: 10.1111/cen.12556.

MAMANASIRI, Sunee *et al.* Mosaicism of a thyroid hormone receptor- β gene mutation in resistance to thyroid hormone. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, n. 9, p. 3471-3477, 2006. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0727>.

MANGELSDORF, David J.; EVANS, Ronald M. The RXR heterodimers and orphan receptors. **Cell**, v. 83, n. 6, p. 841-850, 1995. doi: 10.1016/0092-8674(95)90200-7.

MARGOTAT, A. *et al.* Identification de huit nouvelles mutations dans le gène c-erbAB chez des patients atteints de résistance aux hormones thyroïdiennes [Identification of eight new mutations in the c-erbAB gene of patients with resistance to thyroid hormone]. **Ann Endocrinol (Paris)**. v.62, n.3, p.220-5, 2001.

MCDONALD, Michael P. *et al.* Hyperactivity and learning deficits in transgenic mice bearing a human mutant thyroid hormone $\beta 1$ receptor gene. **Learning & memory**, v. 5, n. 4, p. 289-301, 1998.

MCKENNA, Neil J.; O'MALLEY, Bert W. Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. **Cell**, v. 108, n. 4, p. 465-474, 2002. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00641-4.

MENZAGHI, Claudia *et al.* T426I a new mutation in the thyroid hormone receptor beta gene in a sporadic patient with resistance to thyroid hormone and dysmorphism. Mutations in brief no. 192. Online. **Human Mutation**, v. 12, n. 4, p. 289-289, 1998.

MORAN, Carla; CHATTERJEE, Krishna. Resistance to thyroid hormone due to defective thyroid receptor alpha. **Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism**, v. 29, n. 4, p. 647-657, 2015. doi: 10.1016/j.beem.2015.07.007.

NAMBA, Noriyuki *et al.* Clinical phenotype and endocrinological investigations in a patient with a mutation in the MCT8 thyroid hormone transporter. **European journal of pediatrics**, v. 167, n. 7, p. 785-791, 2008. doi: 10.1007/s00431-007-0589-6.

NARUMI, Satoshi *et al.* One novel and two recurrent THRB mutations associated with resistance to thyroid hormone: structure-based computational mutation prediction. **Clinical Pediatric Endocrinology**, v. 19, n. 4, p. 91-99, 2010. doi: 10.1297/cpe.19.91.

OLATEJU, Tolulope O.; VANDERPUMP, Mark PJ. Thyroid hormone resistance. **Annals of clinical biochemistry**, v. 43, n. 6, p. 431-440, 2006. doi: 10.1258/000456306778904678.

PANKOW, Brian G.; MICHALAK, John; MCGEE, Molly K. Adult human thyroid weight. **Health physics**, v. 49, n. 6, p. 1097-1103, 1985. DOI:10.1097/00004032-198512000-00005.

PAPPA, Theodora *et al.* Prenatal diagnosis of resistance to thyroid hormone and its clinical implications. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 102, n. 10, p. 3775-3782, 2017. doi: 10.1210/jc.2017-01251.

PAPPA, Theodora; REFETOFF, Samuel. Human genetics of thyroid hormone receptor beta: resistance to thyroid hormone beta (RTH β). **Thyroid Hormone Nuclear Receptor**, v.1801, p. 225-240, 2018. doi: 10.1007/978-1-4939-7902-8_18.

PAPPA, Theodora; REFETOFF, Samuel. Resistance to thyroid hormone beta: a focused review. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, p. 656551, 2021. doi: 10.3389/fendo.2021.656551.

PAPPA, Theodora; REFETOFF, Samuel. Resistance to thyroid hormone beta: a focused review. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, p. 656551, 2021. doi: 10.3389/fendo.2021.656551

PARAGLIOLA, Rosa Maria *et al.* Differentiated thyroid cancer in two patients with resistance to thyroid hormone. **Thyroid**, v. 21, n. 7, p. 793-797, 2011. doi: 10.1089/thy.2010.0233.

PERSANI, Luca *et al.* Changes in the degree of sialylation of carbohydrate chains modify the biological properties of circulating thyrotropin isoforms in various physiological and pathological states. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 83, n. 7, p. 2486-2492, 1998. doi: 10.1210/jcem.83.7.4970.

REFETOFF, Samuel *et al.* Classification and proposed nomenclature for inherited defects of thyroid hormone action, cell transport, and metabolism. **Thyroid**, v. 24, n. 3, p. 407-409, 2014. DOI: 10.1089/thy.2013.3393.nomen.

REFETOFF, Samuel; DEWIND, Loren T.; DEGROOT, Leslie 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**, v. 27, n. 2, p. 279-294, 1967. doi: 10.1210/jcem-27-2-279.

REFETOFF, Samuel; DUMITRESCU, Alexandra M. Syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone: genetic defects in hormone receptors, cell transporters and deiodination. **Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism**, v. 21, n. 2, p. 277-305, 2007.

REFETOFF, Samuel; WEISS, Roy E.; USALA, Stephen J. The syndromes of resistance to thyroid hormone. **Endocrine reviews**, v. 14, n. 3, p. 348-399, 1993. doi: 10.1210/edrv-14-3-348.

REUTRAKUL, Sirimon *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**, v. 85, n. 10, p. 3609-3617, 2000. doi: 10.1210/jcem.85.10.6873.

RIBEIRO, R. C. *et al.* Mechanisms of thyroid hormone action: insights from X-ray crystallographic and functional studies. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 53, p. 351-92, 1998a.

RIBEIRO, R.C. *et al.* X-ray crystallographic and functional studies of thyroid hormone receptor. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 65, n. 1-6, p. 133-141, 1998b. doi: 10.1016/s0960-0760(98)00029-6.

RIBEIRO, R.C.; KUSHNER, P.J.; BAXTER, John D. The nuclear hormone receptor gene superfamily. **Annual review of medicine**, v. 46, n. 1, p. 443-453, 1995. doi: 10.1146/annurev.med.46.1.443.

RICHARDS, S. *et al.* ACMG Laboratory Quality Assurance Committee Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genet Med**, v. 17, n. 5, p. 405-424, 2015. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>

SAFER, Joshua D. *et al.* The thyroid hormone receptor- β gene mutation R383H is associated with isolated central resistance to thyroid hormone. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 84, n. 9, p. 3099-3109, 1999. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.9.5985>

SAKURAI, Akihiro *et al.* Dominant negative transcriptional regulation by a mutant thyroid hormone receptor- β in a family with generalized resistance to thyroid hormone. **Molecular Endocrinology**, v. 4, n. 12, p. 1988-1994, 1990. doi: 10.1210/mend-4-12-1988.

SAKURAI, Akihiro *et al.* Generalized resistance to thyroid hormone associated with a mutation in the ligand-binding domain of the human thyroid hormone receptor beta. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 22, p. 8977-8981, 1989. doi: 10.1073/pnas.86.22.8977.

SRIPHRAPRADANG, Chutintorn *et al.* A novel thyroid hormone receptor beta gene mutation (G251V) in a Thai patient with resistance to thyroid hormone coexisting with pituitary incidentaloma. **Thyroid**, v. 26, n. 12, p. 1804-1806, 2016. doi: 10.1089/thy.2016.0450.

STEIN, Mark A.; WEISS, Roy E.; REFETOFF, Samuel. Neurocognitive characteristics of individuals with resistance to thyroid hormone: comparisons with individuals with attention-deficit hyperactivity disorder. **Journal of developmental and behavioral pediatrics**, v.16, n.6, p.406-11, 1995.

TAGAMI, Tetsuya *et al.* Identification of a novel human thyroid hormone receptor β isoform as a transcriptional modulator. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 396, n. 4, p. 983-988, 2010. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.05.038.

USALA, S. J. *et al.* Tight linkage between the syndrome of generalized thyroid hormone resistance and the human c-erbA β gene. **Molecular Endocrinology**, v. 2, n. 12, p. 1217-1220, 1988. doi: 10.1210/mend-2-12-1217.

UTER, Jan *et al.* Patients with mutations of the Thyroid hormone beta-receptor show an ADHD-like phenotype for performance monitoring: an electrophysiological study. **NeuroImage: Clinical**, v. 26, p. 102250, 2020. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102250.

VELA, A. *et al.* Thyroid hormone resistance from newborns to adults: a Spanish experience. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 42, n. 8, p. 941-949, 2019. doi: 10.1007/s40618-019-1007-4.

VINAGRE, João *et al.* Differentiated thyroid cancer in patients with resistance to thyroid hormone syndrome. A novel case and a review of the literature. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 1, p. 10, 2014. doi: 10.3389/fmolb.2014.00010.

WAGNER, Richard L. *et al.* A structural role for hormone in the thyroid hormone receptor. **Nature**, v. 378, n. 6558, p. 690-697, 1995. doi: 10.1038/378690a0.
 WÄRNMARK, Anette *et al.* Activation functions 1 and 2 of nuclear receptors: molecular strategies for transcriptional activation. **Molecular endocrinology**, v. 17, n. 10, p. 1901-1909, 2003. doi: 10.1210/me.2002-0384.

WATERHOUSE, Andrew *et al.* SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018. doi: 10.1093/nar/gky427.

WEBB, Paul; NGUYEN, Phuong; KUSHNER, Peter J. Differential SERM effects on corepressor binding dictate ER α activity in vivo. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 9, p. 6912-6920, 2003. doi: 10.1074/jbc.M208501200.

WEISS, R.E. Management of resistance to thyroid hormone. **Thyroid Today**, v.22, p.1-11,1999.

WEISS, Roy E. *et al.* Attention-deficit hyperactivity disorder and thyroid function. **The Journal of pediatrics**, v. 123, n. 4, p. 539-545, 1993. doi: 10.1016/s0022-3476(05)80947-3.

WEISS, Roy E. *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**, v. 81, n. 12, p. 4196-4203, 1996. doi: 10.1210/jcem.81.12.8954015.

WEISS, Roy E.; DUMITRESCU, Alexandra; REFETOFF, Samuel. Approach to the patient with resistance to thyroid hormone and pregnancy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 7, p. 3094-3102, 2010.

WEISS, Roy E.; REFETOFF, Samuel. Treatment of resistance to thyroid hormone—*primum non nocere*. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 84, n. 2, p. 401-404, 1999.

WEISS, Roy 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**, v. 7, n. 3, p. 389-393, 1997. doi: 10.1089/thy.1997.7.389.9226208.

WILLIAMS, Graham R. Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptor β isoforms. **Molecular and cellular biology**, v. 20, n. 22, p. 8329-8342, 2000. doi: 10.1128/MCB.20.22.8329-8342.2000.

WU, Sharon Y. *et al.* A novel thyroid hormone receptor- β 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**, v. 91, n. 5, p. 1887-1895, 2006. doi: 10.1210/jc.2005-2428

WU, Yifei; XU, Bin; KOENIG, Ronald J. Thyroid hormone response element sequence and the recruitment of retinoid X receptors for thyroid hormone responsiveness. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 6, p. 3929-3936, 2001. doi: 10.1074/jbc.M006743200.

YAO, Benqiang *et al.* Revealing a mutant-induced receptor allosteric mechanism for the thyroid hormone resistance. **IScience**, v. 20, p. 489-496, 2019. doi: 10.1016/j.isci.2019.10.002.

YEN, Paul M. Molecular basis of resistance to thyroid hormone. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 14, n. 7, p. 327-333, 2003. doi: 10.1016/s1043-2760(03)00114-0.

YEN, Paul M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiological reviews**, v. 81, n. 3, p. 1097-1142, 2001. doi: 10.1152/physrev.2001.81.3.1097.

YOH, Sunnie M.; CHATTERJEE, V. K. K.; PRIVALSKY, Martin L. Thyroid hormone resistance syndrome manifests as an aberrant interaction between mutant T3 receptors and transcriptional corepressors. **Molecular endocrinology**, v. 11, n. 4, p. 470-480, 1997.

APÊNDICE

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

AVALIAÇÃO DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM PACIENTES COM RESISTÊNCIA AO HORMÔNIO TIREOIDIANO BETA (RTH β) E CORRELAÇÃO FENÓTIPO/GENÓTIPO

1- O QUE É O ESTUDO?

O Sr(a) está sendo convidado(a) a participar voluntariamente de um estudo sobre avaliação de alterações moleculares em pacientes com resistência ao hormônio tireoidiano e correlação genótipo/fenótipo.

Resistência ao hormônio da tireoide beta (RTH β) é uma síndrome rara caracterizada pela redução da responsividade dos tecidos periféricos ao hormônio da tireoide.

A partir de um maior conhecimento sobre as variantes genéticas, poderemos definir um possível rastreio para familiares dos membros afetados. Além disso, os conhecimentos gerados em nosso estudo permitirão aos médicos estarem mais atentos e mais seguros sobre quando solicitar o rastreio, podendo, assim, realizar um diagnóstico precoce e evitar diagnósticos inadequados.

2- POR QUE FAZER ESSE PROCEDIMENTO?

A participação no estudo não lhe traz nenhum risco. O(A) Sr.(a) continuará a ser acompanhado(a) no consultório/ambulatório pelo seu médico e nada mudará no seu tratamento. Se o(a) Sr.(a) concordar em participar do estudo, será submetido(a) a exames de sangue (retirada de sangue por profissional treinado em acesso periférico) para análise molecular.

3- OBJETIVOS DO ESTUDO

O objetivo deste estudo é avaliar, nos indivíduos afetados, variantes genéticas que possam estar relacionadas ao desenvolvimento da doença e correlacionar com a clínica apresentada.

4- PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Se o(a) Sr(a) concordar em participar deste estudo, será submetido(a) à coleta de sangue periférico. A retirada do sangue periférico será realizada por equipe treinada, e o material será analisado no laboratório de Medicina Molecular da UFMG e não terá nenhum custo para o paciente do estudo. Portanto, ao concordar em participar do estudo, o(a) Sr.(a) não sofrerá nenhum prejuízo ou risco adicional.

Os avanços nas áreas de saúde ocorrem a partir de estudos como este; por isso, sua participação é muito importante.

5- MÉTODOS ALTERNATIVOS AO PROPOSTO PELO ESTUDO:

É importante lembrar que o(a) Sr.(a) pode optar por não participar do estudo. Nesse caso, o seu tratamento seguirá o protocolo padrão para diagnóstico e acompanhamento da resistência ao hormônio tireoidiano.

6- RISCOS RELACIONADOS AO ESTUDO

Não há riscos adicionais aos já inerentes ao procedimento de coleta de sangue, tais como dor, equimoses (manchas roxas sobre a pele) ou sangramento no local da punção.

7- BENEFÍCIOS DO ESTUDO

Este projeto de pesquisa avaliará variantes genéticas em pacientes com resistência ao hormônio tireoidiano.

A validação das variantes pode ampliar o conhecimento sobre o rastreio dos familiares dos membros afetados.

Os resultados do estudo poderão contribuir para uma possível revisão das indicações e rastreio dos pacientes afetados e familiares.

8- QUEM IRÁ UTILIZAR SEUS DADOS?

Além da equipe de saúde que cuidará do(a) Sr.(a), seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética e pela equipe de pesquisadores envolvidos. Seu nome NÃO será revelado ainda que informações de seu registro médico sejam utilizadas para propósitos educativos ou de publicação científica, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

9- CUSTOS E RESSARCIMENTOS

NÃO haverá qualquer custo ou qualquer outro tipo de ressarcimento ou compensação para o(a) Sr(a) pela sua participação no estudo, visto que o estudo é institucional e NÃO possui patrocínio para sua realização.

10- SUA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

É importante que o(a) Sr.(a) saiba que a sua participação neste estudo é completamente voluntária e que o(a) Sr.(a) pode recusar-se a participar sem penalidades ou perda de benefícios aos quais tem direito. O(A) Sr.(a) poderá se retirar do estudo em qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios.

11- ESCLARECIMENTOS SOBRE O ESTUDO

Nós estamos disponíveis para prestar quaisquer esclarecimentos sobre a pesquisa ao(à) Sr(a) ou aos seus familiares. Nesse caso, entre em contato com a pesquisadora responsável, Dra. Francine Luiza Seganfredo, no telefone: (31) 993790790.

12. DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO E ASSINATURA

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os benefícios e ausência de riscos adicionais para a participação. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para participar deste estudo.

Entendo que não serei submetido(a) a nenhum procedimento que traga risco à minha saúde e não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

_____ / ____ / ____

(Assinatura do paciente), dia, mês, ano

(Nome do paciente – letra de forma)

_____ / ____ / ____

(Assinatura de testemunha, se necessário) dia, mês, ano

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao paciente indicado acima e/ou à pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____ / ____ / ____

(Assinatura da pessoa que obteve o consentimento) dia, mês, ano

ANEXO

ANEXO A - Table 2 *THRB* variants affecting coding regions and their clinical significance**Table 2** *THRB* variants affecting coding regions and their clinical significance

Genomic reference sequence ^a	Coding DNA reference sequence ^b	Exon	Codon	Protein change	Clinical significance	References
g.270864A>G	c.1A>G	4	1	p.Met1Val	Uncertain significance	ClinVar
g.309518A>C	c.52A>C	5	18	p.Lys18Gln	Uncertain significance	ClinVar
g.309533C>T	c.67C>T	5	23	p.Arg23Ter	Pathogenic	ClinVar
g.309542G>A	c.76G>A	5	26	p.Asp26Asn	Pathogenic	[70]
g.309573G>A	c.107G>A	5	36	p.Cys36Tyr	Pathogenic	[70]
g.309592T>C	c.126T>C	5	42	p.His42His	Uncertain significance	ClinVar
g.309648C>A	c.182C>A	5	61	p.Thr61Asn	Uncertain significance	ClinVar
g.309679C>A	c.213C>A	5	71	p.Asp71Glu	Uncertain significance	ClinVar
g.356232C>T	c.648C>T	8	216	p.Asp216Asp	Uncertain significance	ClinVar
g.356263_356280dup18	c.679_696dup18	8	227–232	p.Glu227_Thr232dup	Uncertain significance	ClinVar
g.356284G>A	c.700G>A	8	234	p.Ala234Thr	Pathogenic	ClinVar; HGMD [71]
g.356284G>C	c.700G>C	8	234	p.Ala234Pro	Uncertain significance	ClinVar
g.356312G>A	c.728G>A	8	243	p.Arg243Gln	Pathogenic	ClinVar; HGMD [72]
g.356311C>G	c.727C>G	8	243	p.Arg243Gly	Uncertain significance	ClinVar
g.356311C>T	c.727C>T	8	243	p.Arg243Trp	Pathogenic	ClinVar; HGMD [73]
g.356321T>C	c.737T>C	8	246	p.Leu246Pro	Uncertain significance	ClinVar
g.366370C>T	c.740C>T	9	247	p.Pro247Leu	Pathogenic	HGMD [74]
g.366371T>C	c.749T>C	9	250	p.Ile250Thr	Pathogenic	HGMD [75]
g.366373G>A	c.751G>A	9	251	p.Gly251Arg	Pathogenic	HGMD [76]
g.366373G>C	c.751G>C	9	251	p.Gly251Arg	Likely pathogenic	ClinVar
g.366374G>A	c.752G>A	9	251	p.Gly251Glu	Pathogenic	HGMD [77]
g.366374G>T	c.752G>T	9	251	p.Gly251Val	Pathogenic	[21]
g.366413T>A	c.791T>A	9	264	p.Val264Asp	Pathogenic	HGMD [58]
g.366425C>A	c.803C>A	9	268	p.Ala268Asp	Pathogenic	HGMD [60]
g.366425C>G	c.803C>G	9	268	p.Ala268Gly	Pathogenic	ClinVar; HGMD [78]
g.366448_366450delATC	c.826_828delATC	9	276	p.Ile276del	Pathogenic	HGMD [60]
g.366448A>C	c.826A>C	9	276	p.Ile276Leu	Pathogenic	HGMD [79]
g.366449T>A	c.827T>A	9	276	p.Ile276Asn	Pathogenic	HGMD [80]
g.366451A>G	c.829A>G	9	277	p.Thr277Ala	Pathogenic	HGMD [60]
g.366452C>T	c.830C>T	9	277	p.Thr277Ile	Pathogenic	HGMD [13]
g.366458C>A	c.836C>A	9	279	p.Ala279Glu	Pathogenic	HGMD [75]
g.366458C>T	c.836C>T	9	279	p.Ala279Val	Pathogenic	HGMD [60]
g.366460A>G	c.838A>T	9	280	p.Ile280Val	Pathogenic	HGMD [81]
g.366461T>G	c.839T>G	9	280	p.Ile280Ser	Pathogenic	HGMD [63]
g.366466A>G	c.844A>G	9	282	p.Arg282Gly	Pathogenic	[82]
g.366467G>C	c.845G>C	9	282	p.Arg282Thr	Pathogenic	HGMD [81]

g.366468A>C	c.846A>C	9	282	p.Arg282Ser	Pathogenic	HGMD [60]
g.366470T>C	c.848T>C	9	283	p.Val283Ala	Pathogenic	HGMD [83]
g.372100G>A	c.920G>A	10	307	p.Gly307Asp	Uncertain significance	ClinVar
g.372106G>A	c.926G>A	10	309	p.Cys309Tyr	Pathogenic	HGMD [81]
g.372108A>G	c.928A>G	10	310	p.Met310Val	Pathogenic	ClinVar; HGMD [84]
g.372108A>T	c.928A>T	10	310	p.Met310Leu	Pathogenic	HGMD [85]
g.372109T>C	g.929T>C	10	310	p.Met310Thr	Pathogenic	ClinVar; HGMD [86]
g.372110G>A	c.930G>A	10	310	p.Met310Ile	Pathogenic	HGMD [87]
g.372111G>A	c.931G>A	10	311	p.Glu311Lys	Pathogenic	HGMD [88]
g.372117A>G	c.937A>G	10	313	p.Met313Val	Uncertain significance	ClinVar [89]
g.372118T>C	c.938T>C	10	313	p.Met313Thr	Pathogenic	ClinVar; HGMD [90]
g.372121C>A	c.941C>A	10	314	p.Ser314Tyr	Pathogenic	HGMD [91]
g.372121C>G	c.941C>G	10	314	p.Ser314Cys	Pathogenic	HGMD [91]
g.372121C>T	c.941C>T	10	314	p.Ser314Phe	Pathogenic	ClinVar; HGMD [91]
g.372126C>T	c.946C>T	10	316	p.Arg316Cys	Pathogenic	HGMD [92]
g.372127G>A	c.947G>A	10	316	p.Arg316His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [92]
g.372129G>A	c.949G>A	10	317	p.Ala317Thr	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.372129G>T	c.949G>T	10	317	p.Ala317Ser	Pathogenic	[94]
g.372130C>A	c.950C>A	10	317	p.Ala317Asp	Pathogenic	HGMD [95]
g.372138C>A	c.958C>A	10	320	p.Arg320Ser	Pathogenic	HGMD [84]
g.372138C>G	c.958C>G	10	320	p.Arg320Gly	Pathogenic	[89]
g.372138C>T	c.958C>T	10	320	p.Arg320Cys	Pathogenic	ClinVar; HGMD [57]
g.372139G>A	c.959G>A	10	320	p.Arg320His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [57]
g.372139G>T	c.959G>T	10	320	p.Arg320Leu	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]
g.372139G>C	c.959G>C	10	320	p.Arg320Pro	Pathogenic	[96]
g.372142A>G	c.962A>G	10	321	p.Tyr321Cys	Pathogenic	HGMD [58]
g.372144G>C	c.964G>C	10	322	p.Asp322His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [97]
g.372157A>G	c.977A>G	10	326	p.Glu326Gly	Likely pathogenic	ClinVar
g.372159A>C	c.979A>C	10	327	p.Thr327Pro	Pathogenic	HGMD [98]
g.372159A>G	c.979A>G	10	327	p.Thr327Ala	Pathogenic	HGMD [75]
g.372160C>A	c.980C>A	10	327	p.Thr327Asn	Pathogenic	ClinVar
g.372163T>C	c.983T>C	10	328	p.Leu328Ser	Pathogenic	HGMD [99]
g.372166C>A	c.986C>A	10	329	p.Thr329Asn	Pathogenic	HGMD [100]
g.372166C>T	c.986C>T	10	329	p.Thr329Ile	Pathogenic	HGMD [101]
g.372169T>C	c.989T>C	10	330	p.Leu330Ser	Pathogenic	HGMD [102]
g.372171A>G	c.991A>G	10	331	p.Asn331Asp	Pathogenic	HGMD [103]
g.372174G>A	c.994G>A	10	332	p.Gly332Arg	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.372175G>A	c.995G>A	10	332	p.Gly332Glu	Pathogenic	HGMD [58]
g.372178A>G	c.998A>G	10	333	p.Glu333Gly	Uncertain significance	ClinVar
g.372179A>C	c.999A>C	10	333	p.Glu333Asp	Pathogenic	HGMD [104]
g.372181T>C	c.1001T>C	10	334	p.Met334Thr	Pathogenic	HGMD [105]
g.372181T>G	c.1001T>G	10	334	p.Met334Arg	Pathogenic	HGMD [106]
g.372183G>C	c.1003G>C	10	335	p.Ala335Pro	Pathogenic	HGMD [103]

g.372186G>A	c.1006G>A	10	336	p.Val336Met	Pathogenic	HGMD [107]
g.372186G>C	c.1006G>C	10	336	p.Val336Leu	Pathogenic	HGMD [84]
g.372189A>G	c.1009A>G	10	337	p.Thr337Ala	Pathogenic	ClinVar; HGMD [108]
g.372190_372192delCAC	c.1010_1012delCAC	10	337	p.Thr337del	Pathogenic	ClinVar; HGMD [109]
g.372192C>T	c.1012C>T	10	338	p.Arg338Trp	Pathogenic	ClinVar; HGMD [57]
g.372193G>T	c.1013G>T	10	338	p.Arg338Leu	Pathogenic	HGMD [58]
g.372200G>C	c.1020G>C	10	340	p.Gln340His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [110]
g.372201C>G	c.1021C>G	10	341	p.Leu341Val	Pathogenic	ClinVar [111]
g.372202T>C	c.1022T>C	10	341	p.Leu341Pro	Pathogenic	HGMD [103]
g.372205A>T	c.1025A>T	10	342	p.Lys342Ile	Pathogenic	HGMD [99]
g.372209T>G	c.1029T>G	10	343	p.Asn343Lys	Uncertain significance	ClinVar; HGMD [99]
g.372211G>A	c.1031G>A	10	344	p.Gly344Glu	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]
g.372211G>C	c.1031G>C	10	344	p.Gly344Ala	Pathogenic	HGMD [112]
g.372213G>A	c.1033G>A	10	345	p.Gly345Ser	Pathogenic	ClinVar; HGMD [113]
g.372213G>C	c.1033G>C	10	345	p.Gly345Arg	Pathogenic	ClinVar; HGMD [114]
g.372213G>T	c.1033G>T	10	345	p.Gly345Cys	Likely pathogenic	ClinVar
g.372214G>A	c.1034G>A	10	345	p.Gly345Asp	Pathogenic	ClinVar; HGMD [115]
g.372214G>T	c.1034G>T	10	345	p.Gly345Val	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.372216C>G	c.1036C>G	10	346	p.Leu346Val	Pathogenic	HGMD [116]
g.372216C>T	c.1036C>T	10	346	p.Leu346Phe	Pathogenic	HGMD [103]
g.372219G>T	c.1039G>T	10	347	p.Gly347Trp	Pathogenic	HGMD [117]
g.372220G>A	c.1040G>A	10	347	p.Gly347Glu	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.372220G>C	c.1040G>C	10	347	p.Gly347Ala	Pathogenic	HGMD [118]
g.372223T>A	c.1043T>A	10	348	p.Val348Glu	Pathogenic	HGMD [119]
g.372225G>A	c.1045G>A	10	349	p.Val349Met	Pathogenic	HGMD [58]
g.372229C>T	c.1049C>T	10	350	p.Ser350Leu	Pathogenic	HGMD [120]
g.372237A>G	c.1057A>G	10	353	p.Ile353Val	Pathogenic	HGMD [121]
g.372249G>C	c.1069G>C	10	357	p.Gly357Arg	Pathogenic	[122]
g.372256C>T	c.1076C>T	10	359	p.Ser359Phe	Uncertain significance	ClinVar
g.372300C>A	c.1120C>A	10	374	p.Gln374Lys	Pathogenic	HGMD [81]
g.376700C>T	c.1147C>T	11	383	p.Arg383Cys	Pathogenic	HGMD [81]
g.376701G>A	c.1148G>A	11	383	p.Arg383His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [123]
g.376707G>A	c.1154G>A	11	385	p.Gly385Glu	Uncertain significance	ClinVar
g.376830C>T	c.1277C>T	11	426	p.Thr426Ile	Pathogenic	HGMD [124]
g.376838C>T	c.1285C>T	11	429	p.Arg429Trp	Pathogenic ^c	HGMD [125]
g.376839G>A	c.1286G>A	11	429	p.Arg429Gln	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]
g.376841_376843delATG	c.1288_1290delATG	11	430	p.Met430del	Pathogenic	HGMD [106]
g.376844A>G	c.1291A>G	11	431	p.Ile431Val	Pathogenic	HGMD [126]
g.376845T>C	c.1292T>C	11	431	p.Ile431Thr	Pathogenic	HGMD [58]
g.376846A>G	c.1293A>G	11	431	p.Ile431Met	Pathogenic	ClinVar; HGMD [103]
g.376847_376849delGGA	c.1294_1296delGGA	11	432	p.Gly432del	Pathogenic	HGMD [106]
g.376850_376857delGCC TGC CA	c.1297_1304delGCC TGC CA	11	433–435	p.His435fs	Pathogenic	HGMD [127]
g.376855C>A	c.1302C>A	11	434	p.Cys434Ter	Pathogenic	ClinVar; HGMD [128]
g.376857A>C	c.1304A>C	11	435	p.His435Pro	Pathogenic	HGMD [129]
g.376857A>T	c.1304A>T	11	435	p.His435Leu	Pathogenic	HGMD [130]
g.376858T>A	c.1305T>A	11	435	p.His435Gln	Pathogenic	HGMD [130]
g.376858T>G	c.1305T>G	11	435	p.His435Gln	Pathogenic	ClinVar
g.376859_376860insT	c.1306_1307insT	11	436	p.Ala436fs	Pathogenic	HGMD [131]

g.376865C>T	c.1312C>T	11	438	p.Arg438Cys	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]
g.376865delC	c.1312delC	11	438	p.Arg438fs	Pathogenic	ClinVar; HGMD [132]
g.376866G>A	c.1313G>A	11	438	p.Arg438His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [133]
g.376866G>C	c.1313G>C	11	438	p.Arg438Pro	Pathogenic	[94]
g.376872T>C	c.1319T>C	11	440	p.Leu440Pro	Pathogenic	HGMD [75]
g.376877A>G	c.1324A>G	11	442	p.Met442Val	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.376878T>C	c.1325T>C	11	442	p.Met442Thr	Pathogenic	HGMD [134]
g.376879_376880delGAinsATc.1326_1327delGAinsAT	c.1326_1327delGAinsAT	11	442–443	p.Lys443Ter	Pathogenic	ClinVar
g.376880A>G	c.1327A>G	11	443	p.Lys443Glu	Pathogenic	ClinVar; HGMD [135]
g.376886G>T	c.1333G>T	11	445	p.Glu445Ter	Pathogenic	HGMD [136]
g.376889T>C	c.1336T>C	11	446	p.Cys446Arg	Pathogenic	ClinVar; HGMD [137]
g.376891C>A	c.1338C>A	11	446	p.Cys446Ter	Pathogenic	HGMD [138]
g.376892C>A	c.1339C>A	11	447	p.Pro447Thr	Pathogenic	HGMD [103]
g.376894dupC	c.1341dupC	11	448	p.Thr448fs	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.376898G>T	c.1345G>T	11	449	p.Glu449Ter	Likely pathogenic	ClinVar; HGMD [139]
g.376900_376910delACTCTT CCCCC	c.1347_1357delACTCTT CCCCC	11	449–453	p.Glu449fs	Pathogenic	[140]
g.376901C>T	c.1348C>T	11	450	p.Leu450Phe	Pathogenic	ClinVar
g.376902T>A	c.1349T>A	11	450	p.Leu450His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [141]
g.376902T>C	c.1349T>C	11	450	p.Leu450Pro	Pathogenic	HGMD [142]
g.376904T>A	c.1351T>A	11	451	p.Phe451Ile	Pathogenic	HGMD [130]
g.376904T>C	c.1351T>C	11	451	p.Phe451Leu	Pathogenic	HGMD [84]
g.376904T>G	c.1351T>G	11	451	p.Phe451Val	Likely pathogenic	ClinVar
g.376906delCinsAA	c.1353delCinsAA	11	451	p.Phe451fs	Pathogenic	HGMD [143]
g.376906_376907insACTCTT C	c.1353_1354insACTCTT C	11	452	p.Pro452fs	Pathogenic	HGMD [58]
g.376906_376907insT	c.1353_1354insT	11	452	p.Pro452fs	Pathogenic	HGMD [142]
g.376908C>G	c.1355C>G	11	452	p.Pro452Arg	Pathogenic	HGMD [84]
g.376908C>T	c.1355C>T	11	452	p.Pro452Leu	Pathogenic	[144]
g.376910C>A	c.1357C>A	11	453	p.Pro453Thr	Pathogenic	ClinVar; HGMD [93]
g.376910C>G	c.1357C>G	11	453	p.Pro453Ala	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]
g.376910C>T	c.1357C>T	11	453	p.Pro453Ser	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]
g.376910delCCinsTA	c.1357delCCinsTA	11	453	p.Pro453Tyr	Pathogenic	HGMD [81]
g.376911C>A	c.1358C>A	11	453	p.Pro453His	Pathogenic	ClinVar; HGMD [145]
g.376911C>T	c.1358C>T	11	453	p.Pro453Leu	Pathogenic	HGMD [103]
g.376911dupC	c.1358dupC	11	453	p.Pro453fs	Pathogenic	ClinVar; HGMD [115]
g.376913T>G	c.1360T>G	11	454	p.Leu454Val	Pathogenic	HGMD [146]
g.376914T>C	c.1361T>C	11	454	p.Leu454Ser	Pathogenic	HGMD [147]
g.376916T>A	c.1363T>A	11	455	p.Phe455Ile	Pathogenic	HGMD [148]
g.376917T>C	c.1364T>C	11	455	p.Phe455Ser	Pathogenic	HGMD [149]
g.376921_376922insC	c.1368_1369insC	11	457	p.Glu457fs	Pathogenic	HGMD [150]
g.376923A>G	c.1370A>G	11	457	p.Glu457Gly	Pathogenic	HGMD [84]
g.376926T>A	c.1373T>A	11	458	p.Val458Glu	Pathogenic	HGMD [151]
g.376926T>C	c.1373T>C	11	458	p.Val458Ala	Pathogenic	ClinVar; HGMD [152]
g.376929T>G	c.1376T>G	11	459	p.Phe459Cys	Pathogenic	ClinVar; HGMD [97]
g.376930C>G	c.1377C>G	11	459	p.Phe459Leu	Pathogenic	HGMD [84]
g.376931G>A	c.1378G>A	11	460	p.Glu460Lys	Pathogenic	ClinVar; HGMD [58]

cDNA complementary DNA, *HGMD* Human Gene Mutation Database, *THRB* thyroid hormone receptor beta, *TSH* thyroid-stimulating hormone ^a Variants are numbered in relation to the *THRB* DNA reference sequence (GenBank accession number NG_009159.1)

^b Variants are numbered in relation to the *THRB* cDNA reference sequence (GenBank accession number NM_000461.4), whereby nucleotide +1 corresponds to the A of the ATG-translation initiation codon

^c The authors affirmed that the artificial mutant obtained in vitro displayed a normal T(3)-binding affinity and transactivation function. However, the proband and his grandmother, carrying the variant p.Arg429Trp, had an authentic hyperthyroidism with high FT(4) plasma level in the presence of inappropriate TSH

Fonte: CONCOLINO, Paola; COSTELLA, Alessandra; PARAGLIOLA, Rosa Maria. Mutational landscape of resistance to thyroid hormone beta (RTH β). **Molecular Diagnosis & Therapy**, v. 23, n. 3, p. 353-368, 2019. doi: 10.1007/s40291-019-00399-w.