

Hipotiroidismo congénito transitorio por defectos bialélicos del gen *DUOX2*. Dos casos clínicos

Transient congenital hypothyroidism due to biallelic defects of DUOX2 gene. Two clinical cases

Dra. Rosa E. Enacán^a, Dra. María E. Masnata^a, Bioq. Fiorella Belforte^{b,c}, Dra. Patricia Papendieck^a, Bioq. María C. Olcese^{b,c}, Bioq. Sofía Siffo^{b,c}, Dra. Laura Gruñeiro-Papendieck^a, Dr. Héctor Targovnik^b, Dra. Carina M. Rivolta^b y Dra. Ana E. Chiesa^a

RESUMEN

El hipotiroidismo congénito afecta a 1:2000-3000 recién nacidos detectados por pesquisa neonatal. Las oxidasas duales, DUOX1 y 2, generan agua oxigenada, lo que constituye un paso crítico en la síntesis hormonal.

Se han comunicado mutaciones en el gen *DUOX2* en casos de hipotiroidismo congénito transitorio y permanente.

Se describen dos hermanos con hipotiroidismo congénito detectados por pesquisa neonatal, con glándula tiroidea eutópica y tiroglobulina elevada. Recibieron levotiroxina hasta su reevaluación en la infancia con suspensión del tratamiento. Su función tiroidea fue normal y se consideró el cuadro como transitorio por un posible defecto de organificación.

Ambos pacientes eran heterocigotos compuestos para una mutación en el exón 9 del alelo paterno (c.1057_1058delTT, p.F353PfsX36 o p.F353fsX388) y otra en el exón 11 del alelo materno (c.1271T>G, p.Y425X) del gen *DUOX2*.

Nuestro hallazgo confirma que la magnitud del defecto de *DUOX2* no se relaciona con el número de alelos afectados, lo que sugiere mecanismos compensadores en la generación de peróxido.

Palabras clave: hipotiroidismo congénito, oxidasa dual, mutación, dishormonogénesis tiroidea.

ABSTRACT

Congenital hypothyroidism affects 1:2000-3000 newborns detected by neonatal screening programs. Dual oxidases, DUOX1 and 2, generate hydrogen peroxide needed for the thyroid hormone synthesis.

- Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-Fundación de Endocrinología Infantil (FEI)-División de Endocrinología, Hospital de Niños R. Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET-Universidad de Buenos Aires, UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Buenos Aires, Argentina.
- Cátedra de Genética, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia:

Dra. Rosa E. Enacán, renacan@cedie.org.ar

Financiamiento: Ninguno.

Conflicto de intereses: Ninguno que declarar.

Recibido: 5-9-2016

Aceptado: 6-12-2016

Mutations in the *DUOX2* gene have been described in transient and permanent congenital hypothyroidism.

Two brothers with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening with eutopic gland and elevated thyroglobulin are described. They were treated with levothyroxine until it could be suspended in both during childhood, assuming the picture as transient.

Organification disorder was confirmed. Both patients were compound heterozygous for a mutation in exon 9 of the paternal allele (c.1057_1058delTT, p.F353PfsX36 or p.F353fsX388) and in exon 11 of the maternal allele (c.1271T > G, p.Y425X) of *DUOX2* gene.

Our finding confirms that the magnitude of the defect of *DUOX2* is not related to the number of inactivated alleles, suggesting compensatory mechanisms in the peroxide supply.

Key words: congenital hypothyroidism, dual oxidase, mutation, thyroid dishormonogenesis.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2017.e162>

Cómo citar: Enacán RE, Masnata ME, Belforte F, et al. Hipotiroidismo congénito transitorio por defectos bialélicos del gen *DUOX2*. Dos casos clínicos. *Arch Argent Pediatr* 2017;115(3):e162-e165.

INTRODUCCIÓN

El hipotiroidismo congénito (HC) es la endocrinopatía congénita más frecuente, que afecta a 1:2000-3000 recién nacidos detectados por los programas de pesquisa neonatal.^{1,2}

La etiología es heterogénea; la disgenesia tiroidea es responsable del 80% de los afectados.

Los defectos en la síntesis de hormonas tiroideas representan del 10% al 20% restante. Entre estos, los más frecuentes son aquellos involucrados en la organificación del yodo.^{3,4}

Las oxidasas duales (*DUOX1* y *2*), componentes del sistema tiroideo generador de agua oxigenada (H_2O_2), constituyen un paso crítico en la síntesis hormonal. El H_2O_2 es utilizado por la tiroperoxidasa en la oxidación del yodo y su incorporación a la proteína específica tiroidea tiroglobulina.³

Las oxidasas duales requieren, además, los factores *DUOX1* y *DUOX2*, responsables de su maduración y translocación a la membrana plasmática.³

Recientemente, se han comunicado mutaciones en los genes *DUOX2/DUOXA2* en casos de HC tanto transitorio como permanente, que se presentan con bocio o glándula eutópica de tamaño normal y prueba de perclorato positiva. Su prevalencia se estima en 1:44 000.⁵

En 2002, Moreno y col. afirmaron que el HC permanente se asociaba a mutaciones inactivantes bialélicas de *DUOX2*, mientras que el HC transitorio se describía en pacientes portadores de mutaciones monoalélicas. Asimismo, Varela y col. describieron, en nuestra población, mutaciones bialélicas del gen *DUOX2* en pacientes con HC permanente.⁶

Sin embargo, desde entonces, se ha descrito una variabilidad fenotípica no relacionada con el número de alelos mutados, que podría ser explicada por otros mecanismos compensadores, como *DUOX1*, cambios epigenéticos, diferencias étnicas o ambientales.¹

Casos clínicos

Se describe el caso de dos hermanos, hijos de padres sanos no relacionados.

La mayor era una niña detectada por pesquisa, con tirotrófina neonatal (*thyroid stimulating hormone in newborns*; TSHn, por sus siglas en inglés) moderadamente elevada: 32,5 μ UI/ml (valor normal –VN–: < 10) en papel de filtro, que motivó su recitación y seguimiento. A los 30 días de vida, inició un tratamiento con 25 μ g/día de levotiroxina (LT4) por presentar un perfil tiroideo compatible con hipotiroidismo –TSH: 32 μ UI/ml (VN: < 10); tiroxina libre (T4l): 1,46 ng/dl (VN: 0,8-2,2); y tiroglobulina elevada: 266 ng/dl (VN: 30-100). El centellograma tiroideo con Tc⁹⁹ evidenció bocio. El perfil tiroideo materno fue normal, con ausencia de anticuerpos antitiroideos. La presunción diagnóstica fue HC por dishormonogénesis. A los 2,9 años, con suspensión del tratamiento por un mes, la función tiroidea fue reevaluada. Resultó normal –TSH: 5,2 μ UI/ml; tiroxina –T4–: 8,2 μ g/dl; T4l: 1,17 ng/dl–, con una tiroglobulina levemente aumentada –41,7 ng/dl (VN: 6-30)– y un test de perclorato levemente positivo –17% (VN: < 10%)–. La niña reinició el tratamiento por los resultados del perclorato y la tiroglobulina. Sin embargo, por la leve alteración encontrada y a la luz de las nuevas comunicaciones,^{1,4,5} el diagnóstico fue reevaluado a los 7 años de edad y se constató, sin tratamiento, un perfil tiroideo normal, test de perclorato < 10, pero tiroglobulina aún levemente aumentada (51,2 ng/dl). Con diagnóstico de HC transitorio,

permaneció sin tratamiento. En la actualidad, a los 12 años de edad, presenta crecimiento y desarrollo puberal normales y permanece bioquímica y clínicamente eutiroidea, con ecografía tiroidea normal y solo una tiroglobulina levemente aumentada.

Su hermano menor inició un tratamiento con 25 μ g/día de LT4 a los 15 días de vida con pesquisa y laboratorio compatibles con HC –TSH sérica: 33 μ UI/ml; T4l: 0,9 ng/dl; y tiroglobulina: 666 ng/dl– y una glándula eutópica de tamaño normal en el centellograma. A los 3,3 años, sin tratamiento, la función tiroidea era normal, con ligero aumento de tiroglobulina (TSH: 4,87 μ UI/ml; T4: 10,2 μ g/dl; T4l: 1,37 ng/dl; tiroglobulina: 41,7 ng/dl) y test de perclorato negativo, que se consideró HC transitorio. A los 7 años de edad, crece y madura con normalidad y permanece clínica y bioquímicamente eutiroidea.

Con el diagnóstico presuntivo de defecto de la organificación, se analizaron por polimorfismo de la conformación de cadenas sencillas (*single strand conformation polymorphism*; SSCP, por sus siglas en inglés) los exones y las regiones intrónicas flanqueantes de los genes de tiroperoxidasa y *DUOX2*. Se detectaron exones con migración aberrante en el gen *DUOX2* (exones 9 y 11), que fueron secuenciados mediante la técnica de Sanger.

Ambos pacientes resultaron heterocigotas compuestas para una delección en el exón 9 del alelo paterno (c.1057_1058delTT, p.F353PfsX36 o p.F353fsX388), que fue caracterizada por clonado en el vector pGEMT y posterior secuenciación y una mutación puntual en el exón 11 del alelo materno (c.1271T>G, p.Y425X).

Ambos padres, portadores de las respectivas mutaciones, y un tercer hermano heterocigoto para la mutación materna tienen una función tiroidea normal (*Figura 1*).

DISCUSIÓN

El HC transitorio ha sido descrito asociado a la exposición a factores externos durante el embarazo y el período perinatal, como el exceso o déficit de iodo, anticuerpos transplacentarios o tratamiento materno con drogas antitiroideas.^{1,4}

Sin embargo, más de la mitad de los casos de HC transitorio son caracterizados como idiopáticos sin evidenciarse un factor responsable de la alteración.

El reconocimiento reciente de defectos en la síntesis tiroidea de presentación neonatal, pero de carácter pasajero, ha puesto interés en

su búsqueda en niños detectados por pesquisa de HC, que, una vez identificados y tratados, deben ser reevaluados durante la infancia para su completa caracterización.

Es así que muchos de estos cuadros han demostrado ser defectos transitorios que hubieran sido indiferenciables en el período neonatal, pero en los que no existe indicación de tratamiento permanente.⁷

Este grupo de pacientes se presenta con glándula eutópica o, incluso, bocio neonatal.^{4,5,8}

Generalmente, la inactivación bialélica de los genes codificadores del NIS (*sodium iodide symporter*, transportador de yodo), de tiroperoxidasa o tiroglobulina son causa de HC permanente, pero se han descrito casos en los que se han encontrado defectos heterocigotas con el mismo fenotipo clínico. En ellos, se plantea la necesidad de completar el estudio molecular de los genes responsables de la síntesis tiroidea y no se descarta la posibilidad de afectación

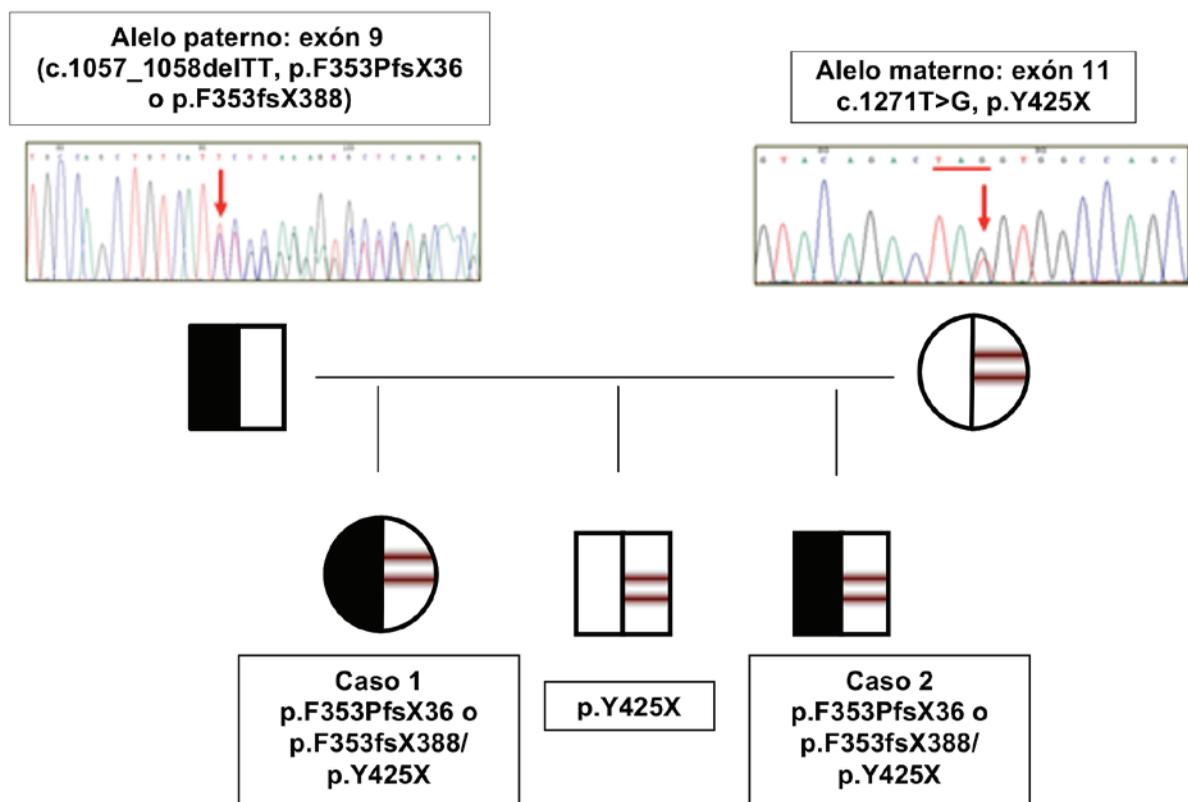
concomitante de genes distintos. De hecho, se han encontrado pacientes con HC y defectos monoalélicos concomitantes del gen del receptor de TSH y tiroperoxidasa.⁵

Con relación al sistema de generación de H₂O₂, la suposición inicial de que las mutaciones bialélicas de *DUOX2* causaban HC permanente y las monoalélicas provocaban cuadros transitorios ha sido refutada por el hallazgo de mutaciones bialélicas de *DUOX2* asociadas a HC transitorio y la observación de Jin y col., de dos pacientes con mutaciones monoalélicas de *DUOX2* e hipotiroidismo permanente.^{1,4,5}

Confirmando la heterogeneidad clínica del cuadro, Ohye y col., en 2008, describieron un paciente homocigota para una mutación con pérdida de sentido de *DUOX2* con hipotiroidismo grave y bocio de aparición en la adultez.^{4,9}

Nuestros hallazgos confirman que la magnitud del defecto no está relacionada con el número de alelos afectados, dado que nuestros pacientes

FIGURA 1. Genograma de la familia afectada



Detección de los exones con migración aberrante del gen *DUOX2* por polimorfismo de la conformación de cadenas sencillas (SSCP) y descripción de las mutaciones halladas en los miembros de la familia.

presentan una mutación bialélica de *DUOX2* y un cuadro transitorio resuelto antes de la pubertad.

Hasta la actualidad, la falta de caracterización funcional de la mayoría de las mutaciones en el gen *DUOX2* responsables de HC transitorio no permite evaluar la proteína responsable del fenotipo transitorio en el tejido tiroideo. Sin embargo, Hoste y col. establecieron funcionalmente que incluso la inactivación completa de este gen puede causar cuadros transitorios. La causa de esta discrepancia es desconocida.¹ Explicaciones posibles son la variabilidad en las distintas poblaciones en los genes involucrados en la hormonogénesis tiroidea o la diferente ingesta de iodo.¹ Además, Rigutto y col. demostraron que la enzima DUOX1 era capaz de generar H₂O₂ extracelular en las células tiroideas, lo que sugiere que, en algunas circunstancias, podría compensar parcialmente la pérdida de función de *DUOX2*.^{10,11}

La observación de que el requerimiento de hormona tiroidea en el período neonatal es de cinco a siete veces mayor que en el adulto y disminuye gradualmente con la edad permitiría especular que la producción de H₂O₂ solo por DUOX1 podría resultar insuficiente en el período neonatal e infantil pero adecuada posteriormente.⁴

Sin embargo, en pacientes con HC transitorio por pérdida de actividad de *DUOX2*, podría persistir en el tiempo una reducción subclínica en la síntesis hormonal, que presentaría riesgo de recurrencia del hipotiroidismo ante un incremento del requerimiento en etapas como la pubertad o el embarazo.⁴

CONCLUSIÓN

Se describen 2 hermanos con HC transitorio dishormonogénico por mutaciones bialélicas de *DUOX2*, que refuerzan el concepto de que el fenotipo permanente o transitorio del HC no se relaciona directamente con el número de alelos afectados del gen. Esto sugiere la existencia de un sistema redundante capaz de suplir en el tiempo el defecto identificado o la intervención de otros factores que puedan modular la organificación.

La persistencia del defecto de la función tiroidea debe ser reevaluada en todos los niños con HC detectados por pesquisa neonatal con

glándula eutópica independientemente de la gravedad del cuadro inicial.¹²

La identificación de las causas genéticas responsables del cuadro permanente o transitorio en pacientes con defecto parcial de organificación permitirá su adecuado seguimiento de por vida. ■

REFERENCIAS

1. Hoste C, Rigutto S, Van Vliet G, Miot F, et al. Compound heterozygosity for a novel hemizygous missense mutation and a partial deletion affecting the catalytic core of the H₂O₂-generating enzyme *DUOX2* associated with transient congenital hypothyroidism. *Hum Mutat* 2010;31(4):1304-19.
2. Chiesa A, Prieto L, Mendez V, Papendieck P, et al. Prevalence and etiology of congenital hypothyroidism detected through an Argentine neonatal screening program (1997-2010). *Horm Res Paediatr* 2013;80(3):185-92.
3. Zamproni I, Grasberger H, Cortinovis F, Vigone M, et al. Biallelic inactivation of the dual oxidase maturation factor 2 (*DUOXA2*) gene as a novel cause of congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(2):605-10.
4. Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, et al. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations of the dual oxidase 2 gene in Japanese patients detected by a neonatal screening program. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(11):4261-7.
5. Jin HY, Heo SH, Kim YM, Kim GH, et al. High frequency of *DUOX2* mutations in transient or permanent congenital hypothyroidism with eutopic thyroid glands. *Horm Res Paediatr* 2014;82(4):252-60.
6. Varela V, Rivolta C, Esperante S, Gruñeiro-Papendieck L, et al. Three mutations (p.Q36H, p.G418fsX482, and g.IVS19-2A>C) in the dual oxidase 2 gene responsible for congenital goiter and iodide organification defect. *Clin Chem* 2006;52(2):182-91.
7. Cassio A, Corbetta C, Antonozzi I, Calaciura F, et al. The Italian screening program for primary congenital hypothyroidism: actions to improve screening, diagnosis, follow-up, and surveillance. *J Endocrinol Invest* 2013;36(3):195-203.
8. Grüters A, Krude H. Detection and treatment of congenital hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol* 2011;8(2):104-13.
9. Ohye H, Fukata S, Hishinuma A, Kudo T, et al. A novel homozygous missense mutation of the dual oxidase 2 (*DUOX2*) gene in an adult patient with large goiter. *Thyroid* 2008;18(5):561-6.
10. Rigutto S, Hoste C, Dumont JE, Corvilain B, et al. Duox1 is the main source of hydrogen peroxide in the rat thyroid cell line PCCL3. *Exp Cell Res* 2007;313(18):3892-901.
11. Rigutto S, Hoste C, Grasberger H, Milenkovic M, et al. Activation of dual oxidases Duox1 and *DUOX2*: differential regulation mediated by camp-dependent protein kinase and protein kinase C-dependent phosphorylation. *J Biol Chem* 2009;284(11):6725-34.
12. Léger J, Olivieri A, Donaldson M, Torresani T, et al. European Society for Paediatric Endocrinology Consensus Guidelines on Screening, Diagnosis and Management of Congenital Hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(2):363-84.