



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

**Mutações do gene *Forkhead box protein E1*
e hipotireoidismo congênito: revisão sistemática**

Daniel Lordelo San Martin

Salvador (Bahia)
Junho, 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

(elaborada pela Bibl. Tatiana Bonfim da Bibliotheca Gonçalo Moniz : Memória da Saúde Brasileira/SIBI-UFBA/FMB-UFBA)

M379 San Martin, Daniel Lordelo.

Mutações do gene *Forkhead box protein E1* e hipotireoidismo congênito: revisão sistemática / Daniel Lordelo San Martin. (Salvador, Bahia): DL, San Martin, 2016.

32 fl.; il.

Monografia, como exigência parcial e obrigatória para conclusão do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia (FMB), da Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Professor Orientador: Helton Estrela Ramos.

Palavras chaves: 1. Mutações. 2. Foxe 1. 3. Hipotireoidismo congênito.

I. Ramos, Helton Estrela. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Título.

CDU: 616.441-008.64



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

Mutações do gene *Forkhead box protein E1* e hipotireoidismo congênito: revisão sistemática

Daniel Lordelo San Martin

Professor orientador: **Helton Estrela Ramos**

Monografia apresentado à
Coordenação do Componente
Curricular MED-B60/2015.2,
como pré-requisito parcial à
avaliação desse conteúdo
curricular da Faculdade de
Medicina da Bahia da
Universidade Federal da Bahia.

Salvador (Bahia)
Junho, 2016

Monografia: *Mutações do gene Forkhead box protein E1 e hipotireoidismo congênito: revisão sistemática*, de **Daniel Lordelo San Martin**.

Professor Orientador: **Helton Estrela Ramos**

COMISSÃO REVISORA:

- **Alcina Vinhaes Bittencourt**, Professora do departamento de Medicina Interna e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Crésio de Aragão Dantas Alves**, Professor do departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO:

Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no X Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em ____ de _____ de 2016.

Dedico esta monografia ao
meu **Deus**, meus pais, **Raul e**
Rosana,
meus irmãos, **Victor e**
Rodrigo e a minha namorada
Lara
pelo apoio e amor
incondicional.

EQUIPE

- Daniel Lordelo San Martin, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Correio-e: daniel_lordelo@hotmail.com
- Helton Estrela Ramos, Professor do Instituto de Ciências da Saúde/UFBA.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

- Faculdade de Medicina da Bahia (FMB)
- Instituto de Ciências da Saúde (ICS)

FONTES DE FINANCIAMENTO

1. Recursos próprios.

AGRADECIMENTOS

- ◆ Agradeço ao meu professor orientador, Dr. **Helton Estrela Ramos**, pelo apoio e orientação no decorrer do desenvolvimento do presente trabalho.
- ◆ Agradeço também a ajuda e a prestatividade de **Taíse Lima de Oliveira Cerqueira**.
- ◆ Aos revisores, obrigado pela ajuda e pontualidade para me enviar suas críticas e sugestões.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURA, GRÁFICOS, QUADRO E TABELAS	1
I. RESUMO	3
II. OBJETIVOS	4
III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA	5
III.1. Embriogênese Tireoidiana	5
III.2. Migração	5
III.3 Ontogênese tireoidiana	6
III.4 Foliculogênese e Lobulação	7
III.5 O gene FOXE1	7
III.6 Modelo animal Foxe1 ^{-/-}	9
III.7 Hipotireoidismo Congênito	10
IV. METODOLOGIA	13
V. RESULTADOS	16
VI.1. Descrição geral	16
VI.2. Descrição genótipo-fenótipo	17
VI.3. Aspectos clínicos	21
VII.4 Análise funcional	22
VI. DISCUSSÃO	25
VII. CONCLUSÕES	27
VIII. SUMMARY	28
IX. REFERÊNCIAS IBLIOGRÁFICAS	29

ÍNDICE DE FIGURAS, QUADROS E ALGORITMO

FIGURA

FIGURA I.	Embriogênese tireoidiana, mostrando a invaginação do endoderma no segundo arco faríngeo e a migração de células foliculares primordiais.	5
FIGURA II.	Interação entre ontogenes e genes relevantes para diferenciação e função tireoidiana.	6
FIGURA III.	Domínio <i>forkhead</i> da proteína Foxe1.	7
FIGURA IV.	Sequência do domínio forkhead evidenciando a alta conservação em relação à outras espécies, principalmente na fenilalanina do códon 137.	8
FIGURA V.	Proteína Foxe1 atuando como fator de transcrição do gene TPO.	8
FIGURAVI.	Localização genômica do gene <i>FOXE1</i> .	9
FIGURA VII.	Gene <i>FOXE1</i> e a sua região codificadora.	9
FIGURA VIII.	Criança com a Síndrome de Bamforth-Lazarus.	11
FIGURA IX.	Fluxograma do processo de seleção dos estudos.	15
FIGURA 1.	Heredograma e eletroferograma da família e dos pacientes portadores da mutação p.A65V.	18
FIGURA 2.	Heredograma e eletroferograma da família afetada pela mutação p.S57N.	19
FIGURA 3.	Heredograma e eletroferograma da família portadora da mutação p.N132D.	20
FIGURA 4.	Heredograma e eletroferograma da família portadora da mutação p.R73S.	21

QUADRO

QUADRO 1.	As mutações e suas repercussões.	16
QUADRO 2.	Mutações registradas, análises e estudos realizados.	17
QUADRO 3.	Análise clínica dos pacientes encontrados nos artigos selecionados.	22

ALGORITMO

ALGORITMO I.	Apresentação de proposta de fluxograma para a pesquisa de alterações nos genes candidatos à Disgenesia Tireoidiana.	12
--------------	---	-----------

I. RESUMO

Mutações do gene Forkhead box protein E1 e hipotireoidismo congênito: revisão sistemática. Fundamentação: O gene *Forkhead box protein E1* (ou TTF-2) é um membro da família *winged helix*/domínio *forkhead* e foi primariamente identificado como uma proteína nuclear específica da tireoide. Quando ocorre a mutação nesse domínio pode ocorrer espectros da Síndrome de Bamforth-Lazarus, composta por hipotireoidismo congênito (HC) devido a disgenesia tireoidiana, fenda palatina, cabelo espetado, epiglote bífida e atresia de coanas. **Objetivos:** Revisar sistematicamente as mutações no gene humano *FOXE1* associadas ao HC e seu espectro genótipo-fenotípico. **Métodos:** A revisão sistemática foi baseada na metodologia PRISMA. O processo de seleção dos artigos foi realizado nos sites de busca PUBMED, SCIELO, LILACS e OMIM. Foram incluídos estudos clínicos-moleculares que comprovaram a mutação do gene *FOXE1* e que apresentaram a análise funcional da proteína mutada. **Resultados:** Foram encontrados 73 artigos dos quais seis artigos preencheram os critérios de elegibilidade. Foram encontradas seis mutações em oito participantes. Todos os pacientes apresentaram mutação no domínio *forkhead* e apresentaram disgenesia tireoidiana, com exceção de um que apresentou tireoide tóxica. Fenda palatina e atresia de coanas foram achados comuns. A capacidade de ligação ao DNA e sua atividade transcricional pela proteína mutada foi prejudicada em todos os estudos com exceção de um artigo que demonstrou aumento dessa atividade. **Conclusão:** A mutação do gene *FOXE1* possui alta variabilidade clínica, fenotípica e genotípica e ainda é pouco compreendida em seus aspectos biomoleculares. Não podemos afirmar com alto grau de certeza quando realizar o rastreamento de suas mutações por existirem dados conflitantes. Recomenda-se, ponderando os custos com análise genética e o fato de apenas um paciente não ter apresentado a clínica habitual, realizar o rastreamento apenas em pacientes com HC e fenda palatina ou atresia de coanas.

Palavras-chave: 1. Mutações 2. *FOXE1* 3. Hipotireoidismo congênito

II. OBJETIVOS

PRIMÁRIO

Revisar sistematicamente as mutações no gene humano *FOXE1* associadas ao Hipotireoidismo Congênito e seu espectro clínico.

SECUNDÁRIO

Investigar correlação genótipo-fenótipo das mutações no gene *FOXE1*.

III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DE LITERATURA

III.1. Embriogênese Tireoidiana

A tireoide é a primeira glândula endócrina a surgir durante o desenvolvimento embrionário, aproximadamente no 22º dia após a fecundação, a partir do espessamento e invaginação do endoderma do assoalho faríngeo primitivo, formando o divertículo tireoidiano (Figura 1). Dois grupos de células com estruturas embrionárias diferentes formam a tireoide primitiva: as células foliculares tireoidianas (CFT), derivadas do endoderma, e as células C parafoliculares, derivadas do neuroectoderma.^{1,2,3}

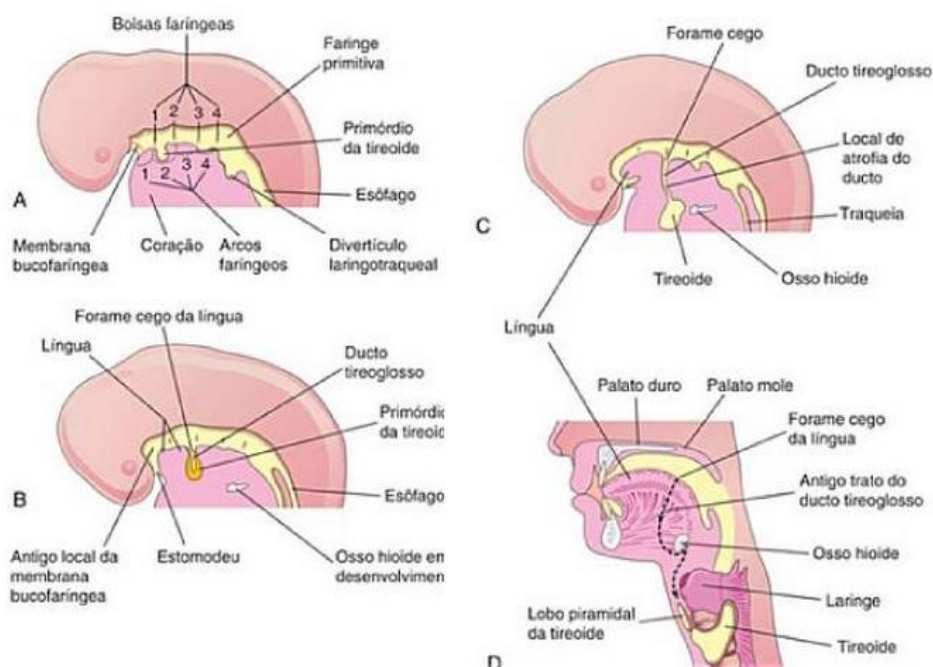


Figura I. Embriogênese da tireoide, mostrando a invaginação do endoderma no segundo arco faríngeo e migração do broto tireoidiano.⁵

III.2. Migração

A migração da glândula ocorre de forma caudal, através do ducto tireoglossal, sem interrupção da proliferação celular. Por volta do E37, em humanos, o ducto tireoglossal é desintegrado e o primórdio tireoidiano perde o contato com o assoalho faríngeo, alcançando sua posição final na base do pescoço, por volta da sétima semana de gestação.^{2,3} O gene *FOXE1* é um dos principais fatores de transcrição relacionado ao processo de migração.⁴ Aos

40-50 dias da gestação, a tireoide fetal atinge sua posição final, localizada anteriormente ao 2° e 3° anéis da traqueia (Figura 1).^{1-3,5}

III.3. Ontogênese tireoidiana

Por volta do E20-22, já existem CFT primordiais, que apresentam a coexpressão simultânea de genes de fatores de transcrição: *NK2 homeobox 1 (NKX2-1)*, *Hematopoietically-expressed homeobox (HHEX)*, *Paired Box 8 (PAX-8)* e *Forkhead box E1 (FOXE1)*, cruciais para a morfogênese tireoidiana. Defeitos nessa rede de interação gênica podem acarretar danos importantes na sobrevivência e proliferação das CFT primordiais. Essa programação genética, ainda mal compreendida, marca a mudança morfológica e molecular para que as CFT primordiais especializem-se e diferenciem-se das células do epitélio endodérmico vizinho. Acredita-se que esse processo, denominado especificação, possa ser oriundo de sinalizadores do mesênquima adjacente ou do endotélio do saco aórtico primitivo (2,6). Defeitos nesse processo desencadeiam as disgenesias tireoidianas.⁷

Os genes *NKX2-1*, *FOXE1*, *PAX-8* e *HHEX* são fatores de transcrição que regulam a expressão de genes específicos da tireoide, importantes para a expressão de proteínas normalmente encontradas na glândula e necessárias à biossíntese hormonal (Figura 2). Mais especificamente, a proteína Nkx2-1 regula a transcrição dos genes da *TG*, *TPO* e *TSHR* nas CFT. Já o gene *PAX-8* é fundamental para a diferenciação, proliferação e sobrevivência celular. O gene *FOXE1*, como citado anteriormente, promove principalmente a migração da tireoide. Já a proteína Hhex mantém a expressão de *NKX2-1* e *PAX-8* na morfogênese tireoidiana.^{2,8}

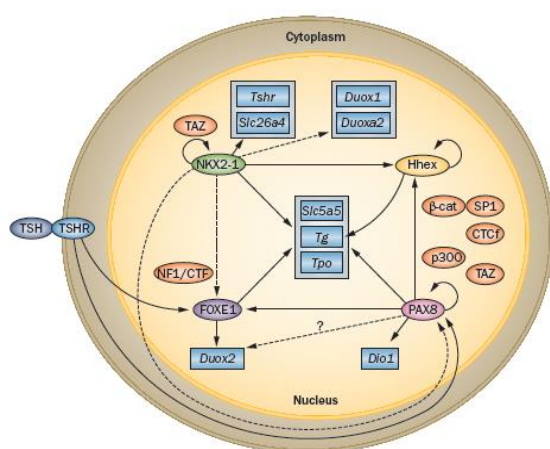


Figura II. A proteína intranuclear FOXE1 atua como fator de transcrição de importantes genes envolvidos na hormonogênese tireoidiana, como *TG* e *TPO*, além de sua interação com outros fatores de transcrição, como *NKX2-1* e *PAX8* e ativação através do receptor do TSH.³⁸

III.4. Foliculogênese e Lobulação

No E50, ocorre o início da formação de folículos rudimentares, processo denominado foliculogênese. Entre o E60-70, a tireoide já possui formato semi-circular, com dois lobos rudimentares paratraqueais, que posteriormente crescem e assumem seu formato final: dois lobos conectados por um istmo central, processo conhecido como lobulação.⁸ Os mecanismos controladores envolvidos, formação dos lobos e proliferação celular ainda são pouco compreendidos, porém Fagman et al (2004), mostrou a colaboração do gene *sonic hedgehog* (*Shh*) e outras interações com genes expressos em tecidos adjacentes.^{9,10} Em 2005, modelo animal heterozigoto para *PAX-8* (+/-) e *TTF-1* (+/-), mostrou elevada frequência de hemiagenesia, refletindo relevância para o processo de lobulação.¹¹

III.5. O gene *FOXE1*

O gene *Forkhead box protein E1* (*FOXE1* ou *TTF-2*) é um membro da família *winged helix*/domínio *forkhead* (Figura 3) e foi primariamente identificado como uma proteína nuclear específica da tireoide.^{12,13} A família do gene *forkhead* foi originalmente identificada no gênero *Drosophila*, e codifica um fator de transcrição.¹⁴

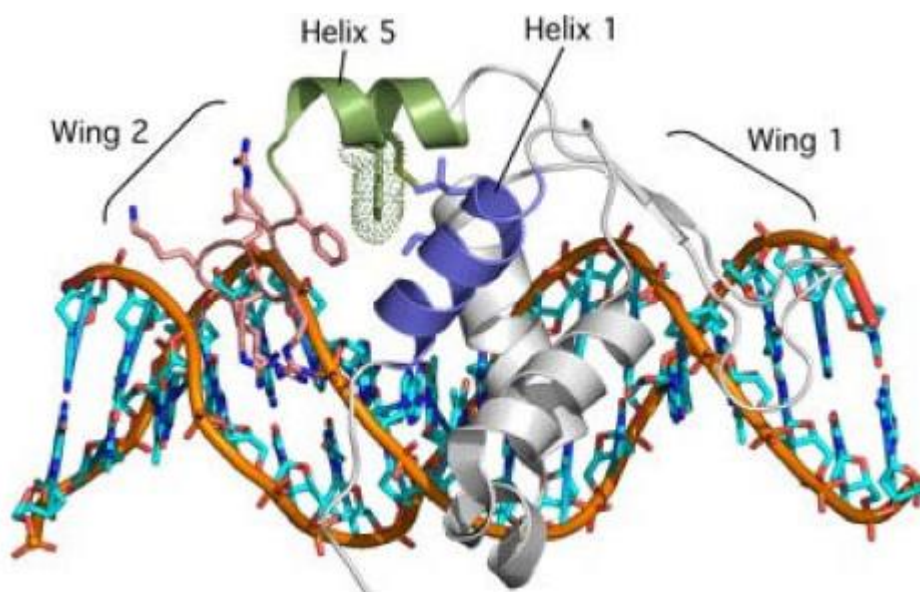


Figura III. O domínio forkhead da proteína FOXE1, que apresenta duas “asas” (*wings*) e as hélices centrais, que formam um monômero que se liga ao DNA, importante para atuação da proteína Foxe1 como fator de transcrição.²⁹

Esse gene é constituído por um único éxon¹⁴ que codifica uma proteína de 42-kDa de 367 aminoácidos contendo a típica região de ligação ao DNA altamente conservada de 100 aminoácidos chamado de domínio *forkhead* (Figura 4), contendo 19 resíduos de polialanina e dois sinais de localização nuclear que flanqueiam este domínio.¹⁵ Essa proteína é capaz de reconhecer e se ligar a uma sequência de DNA presente na região promotora da tireoglobulina (TG) e tireoperoxidase (TPO). Como fator de transcrição pode tanto ativar^{16,17} quanto inibir a transcrição (Figura 5).¹⁸

A

	↓
FOXE1_HUMAN	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
FOXE1_MOUSE	WQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
FOXE1_RAT	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
FOXE3_HUMAN	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
FOXE3_MOUSE	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
Forkhead box E1	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
Forkhead box E3	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
Forkhead protein lens1	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
AmphiFoxE4	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY
Q5J3Q5_XENLA	KWQNSIRHNLTLNDCFLKIPREAGRPGKGNYWALDPNAEDMFESGSEFLRRRKRFRKRSDLSTYPAY

Figura IV. Sequência do domínio forkhead mostrando a sua alta conservação de aminoácidos entre as espécies, com destaque para a fenilalanina do códon 137.²⁹

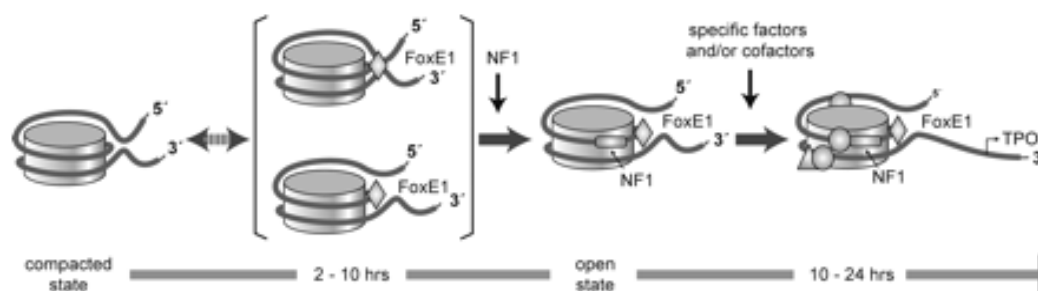


Figura V. A proteína Foxe1 atuando como fator de transcrição do gene TPO, ligando-se a cromatina compacta do gene inativo e promovendo a abertura da região de ligação de outros fatores de transcrição.³⁷

Chadwick et al (1997) isolou e sequenciou o DNA complementar (cDNA) de 3,5-kilobase (kb), a partir do cromossomo 9q22 (Figura 6 e 7). Foi o primeiro trabalho a descrever a proteína FOXE1.¹⁵

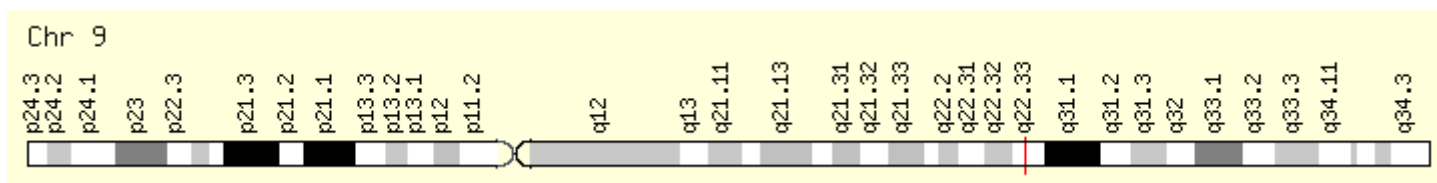


Figura VI. Localização genômica do gene FOXE1. Fonte: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FOXE1&search=8f7cb5e7646e3bd93d55b08940a50b82>.

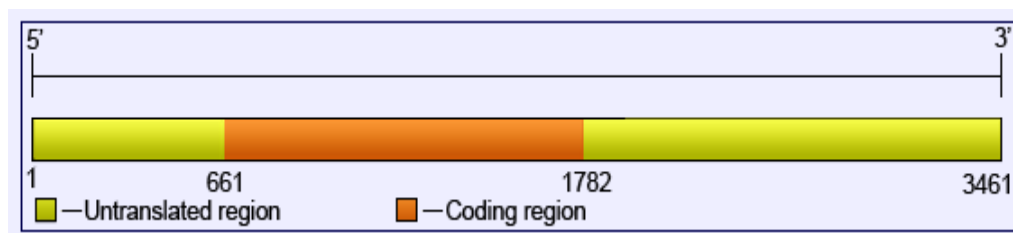


Figura VII. O gene do FOXE1, mostrando o único éxon sem íntrons, com 1121 pares de bases de sequência codificadora. Fonte: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/FOXE1ID47197ch9q22.html>

Em humanos, a expressão do *FOXE1* é observada por volta do 36º dia, no primórdio tireoidiano e persiste durante todo desenvolvimento e fase adulta. Por volta do 46º dia, pode também ser observado no timo, epitélio da orofaringe, e, posteriormente, no esôfago e traqueia.¹⁹ *FOXE1* também expressa-se nas células exócrinas do túbulo seminífero, pele, e folículos pilosos,^{14,20} contudo o transcrito varia entre os diferentes tecidos: no tecido tireoidiano, o resultado da transcrição é um RNAm de 5.3kb, enquanto nos testículos e, em menor grau, também na tireoide, o resultado é um transcrito de 3.2kb.¹⁴

III.6 Modelo animal *Foxe1*^{-/-}

Para testar o papel do gene *FOXE1* na morfogênese tireoidiana, modelos murinos *knockout* desse gene resultaram em fenótipo de agenesia (50%) ou ectopia (50%). Portanto, acredita-se que o *FOXE1* tenha papel fundamental na promoção da sobrevivência e migração de CFTs primitivas.²¹

Entretanto, nesse mesmo modelo, ocorre a expressão normal de *Pax-8* e *Nkx2-1*, e o primórdio tireoidiano forma-se adequadamente, sugerindo não ser crucial nas primeiras etapas do desenvolvimento tireoidiano.^{2,3} Foi observado também que esses camundongos apresentavam outros defeitos, como fenda palatina e alterações de linha média. Portanto,

pode-se afirmar que o gene *FOXE1* é importante para a organogênese, fechamento do palato e migração das CFTs, já que os ratos *Foxe1*^{-/-} demonstram similaridade com a disgenesia tireoidiana humana.²¹

III.7 Hipotireoidismo Congênito

Hipotireoidismo Congênito (HC) é a endocrinopatia congênita mais comum, afetando cerca de 1:3000-4000 recém-nascidos, sendo causa de retardo mental prevenível através do diagnóstico e tratamento precoce.^{22,23} Crianças afetadas podem apresentar icterícia neonatal prolongada, que é o sinal mais precoce da doença, além de nariz em sela, constipação, língua protusa, pele fria e marmórea, hérnia umbilical e fontanela posterior ampla.^{23,24} Se o HC permanecer sem diagnóstico e tratamento, haverá, além dos sintomas e sinais descritos acima, atraso no crescimento somático e no desenvolvimento neuropsicomotor, espasticidade, tremores, movimentos involuntários e incoordenação.²⁴

Os hormônios tireoidianos (HT) são indispensáveis na vida fetal e neonatal, uma vez que controlam importantes fatores de crescimento, como o fator de crescimento neuronal, que é essencial para a proliferação, mielinização e sinaptogênese dos neurônios, sendo a razão pela qual a baixa produção dos HT associa-se com retardo mental.²⁵

O HC pode ser classificada em transitório ou permanente. A forma transitória tem como principais causas o uso de medicamentos pela mãe, passagem de anticorpos autoimunes maternos via placenta ou imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide.²⁵ O HC permanente é dividido, ainda, em primário (referente à glândula tireoide) ou central (quando acomete hipotálamo ou hipófise), com diversas etiologias: a) Deficiência de iodo na alimentação; b) Disgenesia Tireoidiana: defeito da morfogênese da glândula tireoide (agenesia, hemiagenesia, ectopia e hipoplasia); c) Disormonogênese (produção defeituosa de T₃ e T₄); d) Disfunção hipotalâmica ou hipofisária.²⁴

Em países iodo-suficientes, a principal causa de HC é a disgenesia tireoidiana (DT), responsável por aproximadamente 80-85% de todos os casos. A DT é subdividida em agenesia, hemiagenesia (agenesia de apenas um lobo da tireoide), ectopia (glândula tireoide está presente em local fora do habitual) e hipoplasia (desenvolvimento incompleto da glândula). Apenas 2% dos pacientes com DT apresentam mutações nos genes candidatos identificados, como o *NKX2-1*, *FOXE1*, *PAX-8*, *NKX2-5*, *TSHR*, *HES*, sugerindo que sua etiopatogenia é ainda muito mais complexa e multifatorial.²⁶

A síndrome de Bamforth-Lazarus é um espectro raro com padrão hereditário, com as mutações do *FOXE1* acometendo o domínio altamente conservado *forkhead*, descrito acima. Essas mutações são herdadas de pais heterozigotos costumeiramente consanguíneos. A clínica foi descrita pela primeira vez por Bamforth, et al (1989) e é composta por HC devido a disgenesia tireoidiana, fenda palatina, cabelo espetado, epiglote bífida e atresia de coanas.

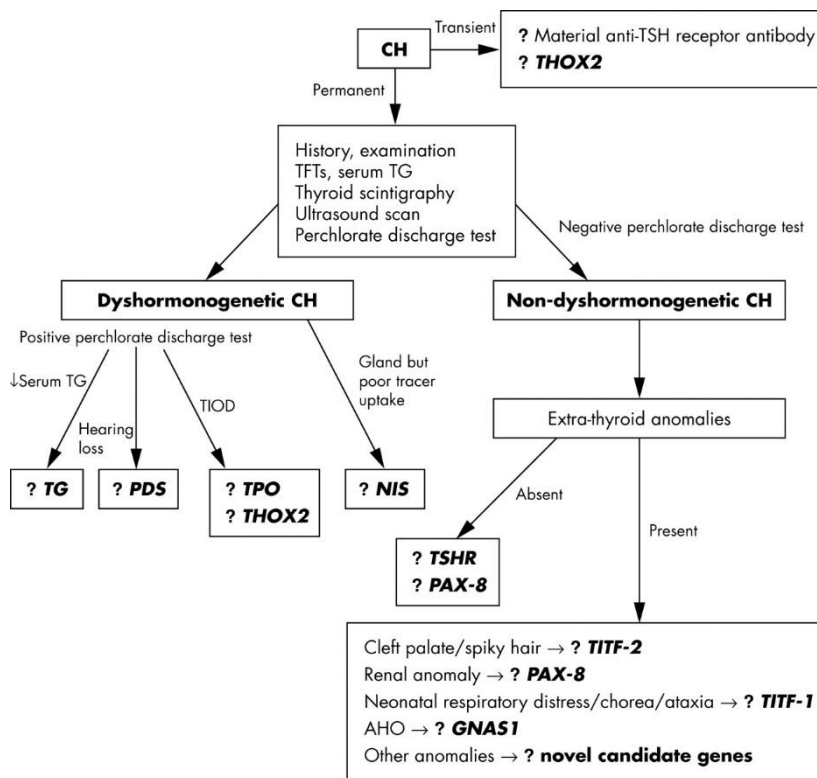


Figura VIII. Criança com a Síndrome de Bamforth-Lazarus. Pode-se observar a fenda palatina e dismorfismo facial, como implantação posterior do cabelo, cabelo espetado e hipertelorismo.²⁸

Percebendo a similaridade dos irmãos descritos por Bamforth e os camundongos *knockout* do *FOXE1*, Clifton-Bligh et al (1998) analisou molecularmente esses irmãos para esse gene e encontrou a primeira mutação homozigótica *missense* A65V (OMIM 241850).

➤ Etiologia molecular do Hipotireoidismo Congênito

Na suspeita de defeitos genéticos, comumente associados a casos familiares, há indicação de genes candidatos envolvidos nos defeitos de morfogênese da tireoide (Algoritmo 1). Isso auxiliaria no tratamento e aconselhamento genético de indivíduos acometidos.²⁷



Algoritmo I. Mutações envolvidas na disgenesia e disormonogênese tireoidiana (63).
Abreviaturas: CH, hipotireoidismo congênito; GNAS, Proteína G estimuladora da subunidade alfa do gene. PDS, gene da Síndrome de Pendred; TFTs, testes de função da tireoide; THOX2, tireoide oxidase 2, NADPH oxidase tireoidiana; TIOD, defeito total de incorporação de iodo.²⁷

IV. METODOLOGIA

A revisão sistemática foi baseada na metodologia PRISMA. O processo de seleção dos artigos (Figura 9) foi realizado nos sites de busca PUBMED, SCIELO, LILACS e OMIM, com a seguinte estratégia: (((foxe1) OR (FOXE-1) OR (TTF-2) OR (TTF2) OR (FKHL15)) AND (mutation)), sem nenhum filtro. Listas de referência também foram examinadas para quaisquer estudos adicionais relevantes que possivelmente não foram encontrados na busca primária. A primeira busca foi feita em 10/11/2014, e a última em 24/03/2016. Foram examinados os artigos primeiramente através da leitura do título e resumos. Após essa leitura inicial, se o artigo não foi excluído, o texto completo foi lido e aplicado os critérios de elegibilidade para seleção dos estudos, listados abaixo. Apenas um autor desenvolveu a busca e a extração de dados.

Só foram aceitos artigos que descreveram mutações no gene *FOXE1*, sem apresentar mutações de outros genes que poderiam interferir na análise do *FOXE1*. Quaisquer idiomas, datas ou status de publicações foram aceitos.

Risco de viés: foi avaliado se os autores apresentavam conflitos de interesse.

As informações foram extraídas através da região da mutação, análise funcional dessa mutação, fenótipo e análise clínica dos pacientes, com a porcentagem dos sinais e sintomas listados nos artigos selecionados.

Critérios de inclusão:

- Estudos clínicos-moleculares que comprovaram a mutação do gene *FOXE1*;
- Estudos que apresentaram a análise funcional da proteína mutada;

Critérios de exclusão:

- Mutação concomitante em outros genes que interferiram na análise da mutação no *FOXE1*;
- Estudo que não especificaram a metodologia molecular para encontrar as mutações;
- Ausência de estudo funcional na proteína mutada;
- Revisão de literatura.

Os autores declaram ausência de conflito de interesse. Não houve fontes externas de financiamento da pesquisa.

Metodologia descrita pelos artigos utilizados na revisão

1. Análise Clínica: todos os pacientes foram analisados quanto ao exame físico, exame laboratorial de função tireoidiana (TSH, T4 total, T4 livre, principalmente) e fizeram uma ultrassonografia da tireoide ou cintilografia da tireoide.^{14,28,29,30-32} Os pais e irmãos também foram analisados com função tireoidiana,¹⁴ exame físico^{28,29,30,31} e exame de imagem da tireoide.³²

2. Análise Molecular: A reação em cadeia da polimerase (PCR) baseia-se no uso da DNA-polimerase para sintetizar uma nova cadeia de DNA complementar à cadeia molde de interesse (que deve ser extraído do paciente para acrescentar a reação), junto a outros reagentes que permitirão a síntese da reação. No final da reação de PCR, a sequência específica do DNA de interesse será acumulada em milhões de cópias (*amplicons*).³³⁻³⁵

Já o método tradicional de sequenciamento de DNA consiste na adição de nucleotídeos modificados, chamados didesoxirribonucleotídeos, que impedem o crescimento de um fragmento de DNA em replicação pela DNA polimerase após sua adição.³³⁻³⁵

O método de pirosequenciamento, por sua vez, consiste em uma nova abordagem molecular do sequenciamento, mais rápida, e se beneficia de uma técnica capaz de captar a emissão de luz causada pela adição de uma luciferase, acoplada à polimerização do DNA previamente fragmentado e aderido a microesferas, com o uso de sequências adaptadoras. Após a reação de sequenciamento, os resultados são gerados e interpretados em programas de bioinformática, onde pode-se observar a presença de polimorfismos ou mutações que podem explicar o quadro clínico do paciente.³³⁻³⁵

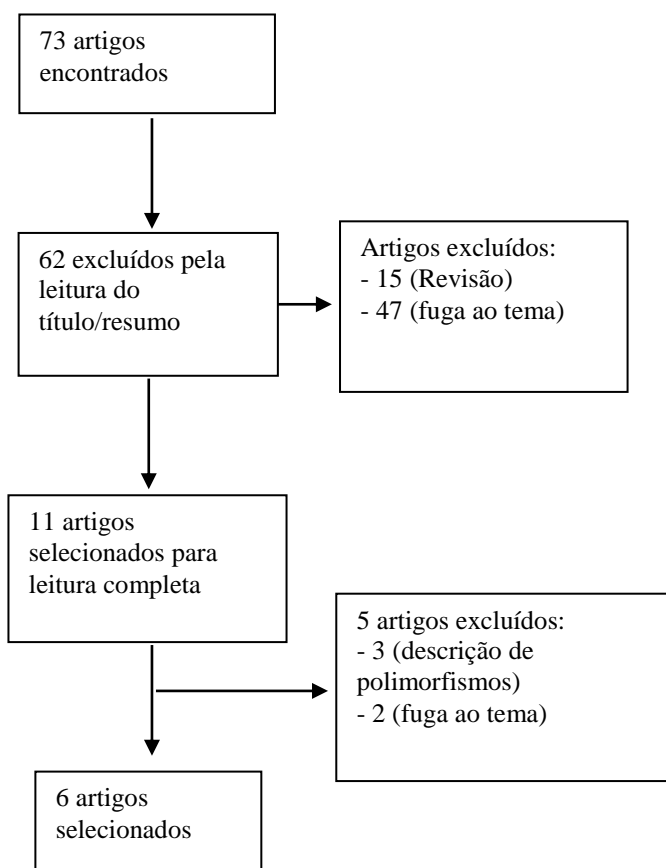
3. Estudo Funcional: Após a amplificação feita utilizando-se o DNA, os autores realizavam ensaios de transfecção para analisar o que a mutação tinha ocasionado no fator de transcrição de interesse: se havia aumentado, diminuído ou se não havia alterado a função de transcrição gênica. O sistema do ensaio de transfecção requer um plasmídeo com o gene do fator de transcrição com a mutação e o segundo plasmídeo contém o gene repórter (exemplo: luciferase). Esses plasmídeos são inseridos em uma célula que não codificam o gene do fator de transcrição, para não haver interferência. Se o plasmídeo com o fator de transcrição aumentar a transcrição do gene repórter, então aquele será um ativador.³³⁻³⁵

O *Western Blot* tem como principal objetivo o exame do DNA normal, mutante, e da proteína codificada pelo gene normal e pelo mutante de interesse. Assim, pode-se analisar como o defeito no DNA vai interferir na proteína codificada para produzir o espectro clínico

observado. As proteínas isoladas a partir de um extrato celular são separadas segundo tamanho ou carga por meio de eletroforese em gel. Após isso, é feita uma reação com anticorpos e a proteína em estudo é avaliada quanto a sua morfologia.³³⁻³⁵

O EMSA (*electrophoretic mobility-shift assay*, em português, ensaio de alteração de mobilidade eletroforética) é utilizada para detectar interações entre DNA e proteína em uma eletroforese. O DNA livre se movimentará mais rapidamente do que o complexo proteína-DNA-substância fluorescente. Sendo assim, pode-se quantificar quanto de ligação houve entre a proteína e o DNA pela movimentação na eletroforese diminuída e a marcação pela substância fluorescente. Contextualizando, essa técnica é muito importante para avaliação da capacidade de ligação da proteína mutada ao gene a ser transcrito.³³⁻³⁵

Figura IX. Fluxograma do processo de seleção dos estudos.



V. RESULTADOS

VI.1 Descrição geral

Foram encontrados 73 artigos, sendo 11 selecionados para leitura completa. Desses 11, seis artigos foram escolhidos para a revisão sistemática.^{14,28,29,30-32} Nenhum artigo foi incluído posteriormente por leitura das referências dos artigos selecionados (Figura 9).

Os estudos descreveram 6 mutações (Quadro 1) em 8 participantes, cinco masculinos e três femininos. O histórico de consanguinidade foi descrito em 4 pacientes (50%). Os pacientes tinham origem da Tunísia,²⁸ Alemanha,²⁹ Turquia,³⁰ Malásia-Indiano,³¹ Egito³² e um artigo não indicou a origem do paciente.¹⁴ Todas as mutações encontradas foram *missense* com troca de nucleotídeos e foram encontradas no domínio *forkhead*.^{14,28,29,30-32} O Quadro 1 descreve as principais características das mutações encontradas e o resultado na proteína mutada.

Quadro 1. As mutações e suas repercussões.

MUTAÇÃO	TIPO DE MUTAÇÃO	CAPACIDADE DE LIGAÇÃO AO DNA	LOCALIZAÇÃO NUCLEAR DA PROTEÍNA	ATIVIDADE TRANSCRICIONAL
P.A65V	Homozigótica Missense	↓↓↓	Normal	↓↓↓
P.S57N	Homozigótica Missense	↓	Normal	↓
P.R102C	Homozigótica Missense	↓↓↓	Não descrita	↓↓↓
P.F137S	Homozigótica Missense	↓↓↓	Não descrita	↓↓↓
P.N132D	Heterozigótica Missense	↓	Não descrita	↓
P.R73S	Homozigótica Missense	Normal	Normal	↑

SBL, Síndrome de Bamforth-Lazarus; HC, Hipotireoidismo Congênito. Levemente reduzida: ↓ Moderadamente reduzida: ↓↓ Altamente reduzida: ↓↓↓

Todos os artigos utilizaram o PCR para amplificar os genes de interesse no estudo^{14,28,29,30-32} e, posteriormente, a reação de sequenciamento pelo método direto,^{14,30} fluorimétrico,²⁸ e interpretados através de programas específicos.^{29,31,32} Todos os estudos realizaram o ensaio

funcional descritos no Quadro 2. O ensaio de transfecção demonstrou que as proteínas mutantes estão presentes no núcleo, mas a alteração encontra-se na ligação ao DNA e na atividade transcricional.^{14,28,29,30-32}

Quadro 2: Mutações registradas, análises e estudos realizados.

Trabalhos	Análise clínica	EMSA	WB	Estudo funcional
Clifton-Bligh RJ, et al (1998)	Sim	Sim	Sim	293 EBNA
Castanet M, et al. (2002)	Sim	Sim	Sim	293 EBNA
Baris I, et al (2006)	Sim	Sim	Não	293 EBNA
Castanet, et al (2010)	Sim	Sim	Não	293 EBNA
Kang IN, et al (2010)	Sim	Sim	Não	HepG2 cells
Carré A, et al (2014)	Sim	Sim	Sim	293 EBNA

WB, *Western Blot*; CA, ensaio de transfecção; EMSA, ensaio de alteração de mobilidade eletroforética; EBNA, Antígeno-1 nuclear do vírus Epstein-Barr virus; HepG2, linhagem celular de células hepatocelulares humanas carcinomatosas.

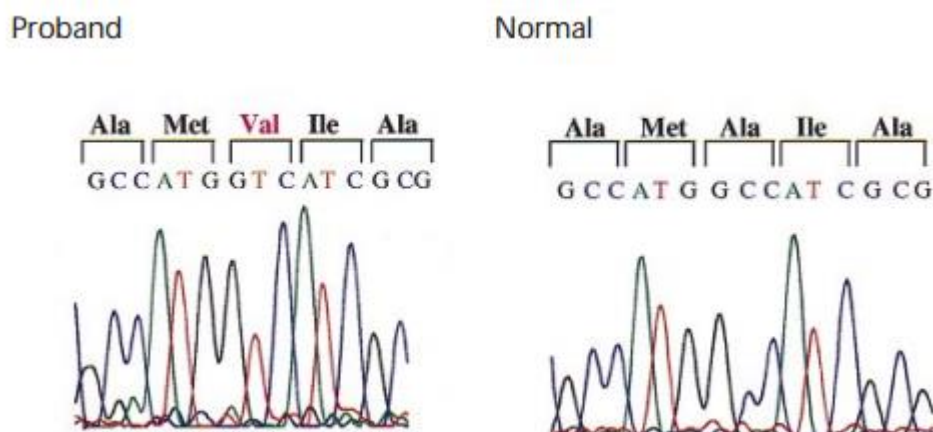
VI.2 Descrição genótipo-fenótipo

Mutação p.A65V – Primeira mutação descrita em dois irmãos do sexo masculino, um de 16 anos e 13 anos. O primeiro apresentava, inicialmente, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, com déficit no crescimento do cabelo e pneumonia aspirativa no período neonatal. Ao exame físico, apresentava fenda palatina, cabelo espetado, retrognatismo da mandíbula e tônus muscular aumentado. O segundo inicialmente apresentou ao exame físico atresia de coanas, fenda palatina, epiglote bífida, micrognatismo, cabelo escasso e espetado, sendo tratado mais rapidamente do que o irmão. A avaliação tireoidiana com ultrassonografia (USG) e Cintilografia com ¹²³I evidenciou agenesia. O irmão mais velho não realizou a triagem neonatal por ter nascido em um local onde não existia o programa de triagem. O TSH neonatal do segundo foi de 205 IU/l e T4 livre de 4 pmol/l. Sequenciamento direto dos dois irmãos evidenciou uma troca de C→G no nucleotídeo 196 correspondendo a uma mudança do aminoácido alanina para valina nos dois irmãos, em padrão homocigótico. A mãe era heterocigota para mutação encontrada (DNA paterno não disponível). Os pais não eram

consanguíneos, tinham os testes de função tireoidiana normal e os resultados das USGs de tireoide não foram descritos.^{14,36}

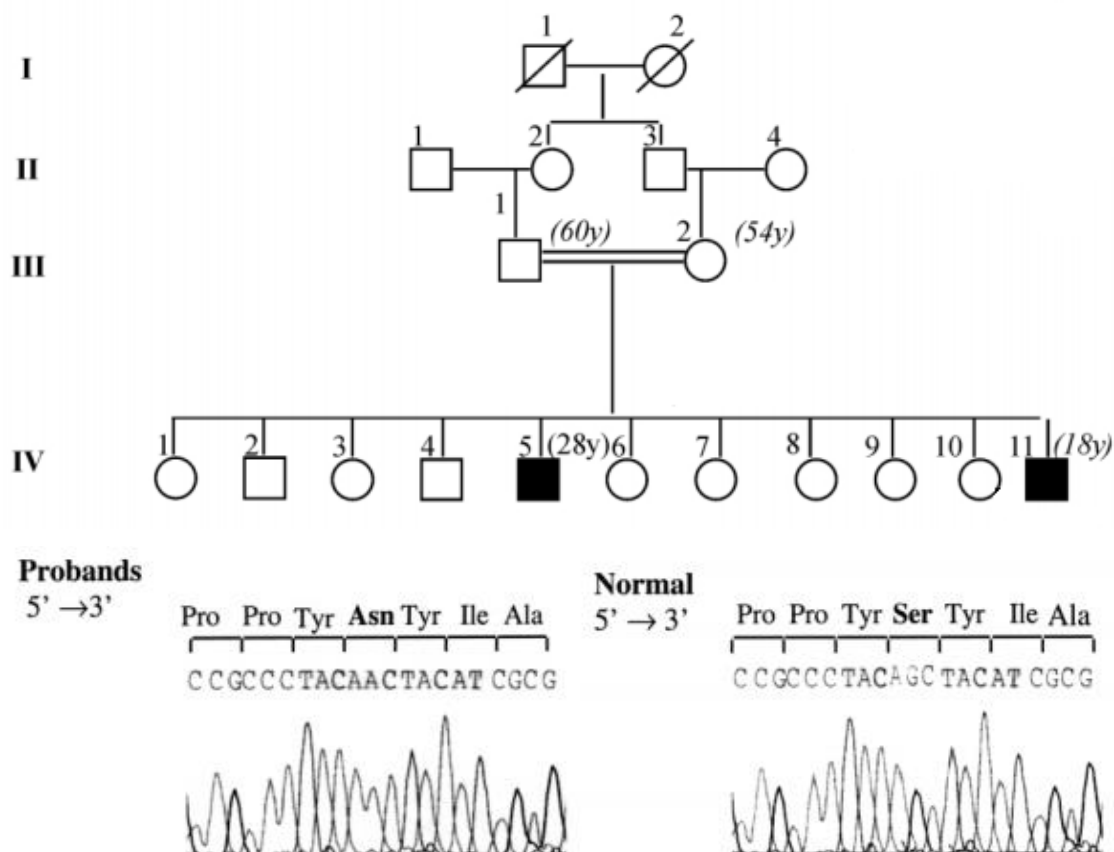
Figura 1. Heredrograma e eletroferograma da família e dos pacientes portadores da mutação p.A65V.¹⁴

Heredograma não disponível.



Mutação p.S57N – Dois irmãos do gênero masculino com idades de 28 anos e 18 anos. O primeiro filho possui dados clínicos apenas de quatro meses de idade, pois nasceu antes da triagem neonatal ser implementada em seu país de origem. Apresentava atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, e atraso no desenvolvimento ósseo. Ao exame físico, apresentava fenda palatina. O segundo irmão apresentou no período neonatal, ao exame físico, cabelo escasso e espetado, icterícia prolongada, ganho de peso inadequado e dismorfismo facial (hipertelorismo, baixa implantação das orelhas, implantação alta dos cabelos), sendo tratado mais rapidamente do que o primeiro irmão. Avaliação tireoidiana com cintilografia com ¹²³I evidenciou agenesia em ambos os irmãos. O irmão mais velho não obteve o TSH neonatal, porém o irmão mais novo apresentou TSH do teste do pezinho de 110 µU/l (valor normal < 20 µU/l), TSH neonatal de 200 µU/l (valor normal < 20 µU/l) e T4 total neonatal de 28 nM/l (valor normal varia de 50-137,5 nM/l), aos 3 dias de vida. Sequenciamento direto dos dois irmãos evidenciou uma troca de G→A no nucleotídeo 169 correspondendo a uma mudança do aminoácido serina para asparagina no códon 57 nos dois irmãos, em padrão homocigótico. Os pais eram heterocigotos para mutação encontrada, consistente com herança autossômica recessiva nessa família. Os pais e irmãos tinham os testes de função tireoidiana normal e não possuíam anormalidades congênitas; não foi descrito as suas USGs de tireoide.²⁸

Figura 2. Heredograma e eletroferograma da família afetada pela mutação p.S57N.²⁸



Mutação p.R102C – Uma paciente do sexo feminino, 9 anos de idade, apresentou inicialmente fenda palatina, cabelo espetado, atresia bilateral de coanas, hipotonia, arreflexia, hipoatividade, hipotermia e angustia respiratória perinatal. O nível do TSH do teste do pezinho da paciente foi $> 100 \mu\text{U/l}$ (valor normal $< 20 \mu\text{U/l}$) e T4 total neonatal de $0,758 \mu\text{g/dl}$ (valor normal varia de $6.1\text{--}14.9 \mu\text{g/dl}$), sendo o tratamento logo implementado. Avaliação tireoidiana com USG evidenciou glândula eutópica, porém após o contraste na Tomografia Computadorizada, não houve realce da glândula, demonstrando funcionamento inadequado. O sequenciamento direto evidenciou uma troca de $\text{C} \rightarrow \text{T}$ no nucleotídeo 304 correspondendo a uma mudança do aminoácido arginina para cisteína no códon 102, em padrão homozigótico. Os pais eram heterozigotos para mutação encontrada, consistente com herança autossômica recessiva nessa família. Os pais e irmãos tinham os testes de função tireoidiana normal e não possuíam anormalidades congênicas; não foi descrito as suas USGs de tireoide.³⁰

Heredograma e eletroferograma não disponível.

Mutação p.F137S – Uma paciente do sexo feminino, 18 anos de idade, apresentou inicialmente fenda palatina, dismorfismo facial, subluxação do quadril e pequeno defeito do

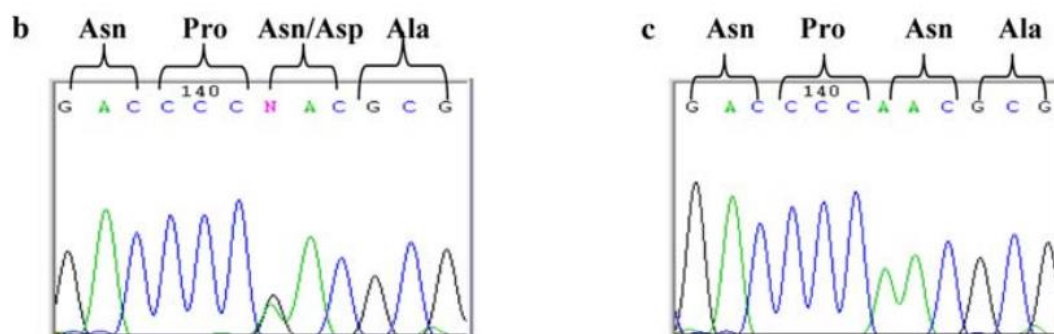
septo ventricular cardíaco. Apenas aos três meses de idade realizou a dosagem do TSH com resultado > 25 $\mu\text{mIU/l}$, sendo iniciado o tratamento. Avaliação tireoidiana com USG evidenciou hipoplasia. Sequenciamento direto evidenciou uma troca de T \rightarrow C no nucleotídeo 412 correspondendo a uma mudança do aminoácido fenilalanina para serina no códon 137, em padrão homocigótico. A mãe era heterocigota para essa mutação e o pai não a possuía, o contrário do até então encontrado nos estudos anteriores. Sendo assim, a paciente herdou um par de alelos do cromossomo da mãe, mas nenhum desse alelo do pai, configurando uma dissomia uniparental materna completa. Os pais e sua irmã tinham os testes de função tireoidiana normal e não possuíam anormalidades congênicas; não foi descrito as suas USGs de tireoide.²⁹

Heredograma e eletroferograma não disponível.

Mutação p.N132D – Paciente do sexo feminino, não especificada a idade, apresentou inicialmente desenvolvimento neurológico lento e língua presa. O TSH sérico foi 149 $\mu\text{IU/ml}$ e o T4 livre < 5 pmol/L . Avaliação tireoidiana com cintilografia por ^{99}Tc revelou agenesia. Sequenciamento direto demonstrou uma troca de A \rightarrow G no nucleotídeo 394 correspondendo a uma mudança do aminoácido asparagina para aspartato no códon 132, em padrão heterocigótico. O pai e dois de seus irmãos eram heterocigotos para a mesma mutação, mas a mãe e a outra irmã não possuía a mutação. Os pais não apresentam consanguinidade. Os pais e seus irmãos tinham os testes de função tireoidiana normal e não possuíam anormalidades congênicas; ao USGs de tireoide, foi encontrado bócio no pai, sem mais alterações nos demais membros da família.³¹

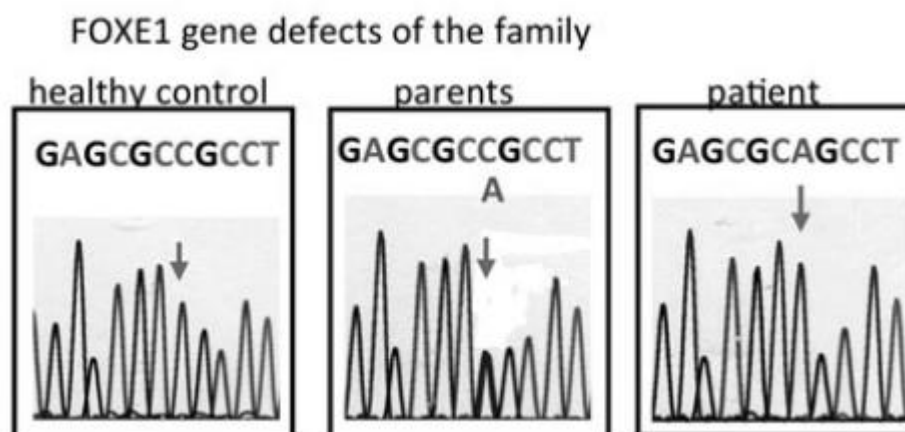
Figura 3. Heredograma e eletroferograma da família portadora da mutação p.N132D.³¹

Heredograma não disponível.



Mutação p.R73S – Paciente do sexo masculino, não especificada a idade, apresentou inicialmente fenda palatina e atresia parcial de coanas. No período neonatal, foi notado sono prolongado e alimentação abaixo do normal. O TSH sérico foi $> 100 \mu\text{U/ml}$ e o T4 total $< 0,02 \text{ ng/dL}$ com um mês de vida. Avaliação tireoidiana com USG revelou a agenesia, e a cintilografia confirmou esse achado. Nesse momento, foi iniciado a terapia medicamentosa. Sequenciamento direto evidenciou uma troca de C \rightarrow A no nucleotídeo 217 correspondendo a uma mudança do aminoácido arginina para serina no códon 73, em padrão homozigótico. Os pais eram heterozigotos para a mesma mutação, sugerindo padrão autossômico recessivo; o seu irmão não foi avaliado. Os pais apresentam consanguinidade, sendo primos de primeiro grau. Eles, e o seu irmão, tinham os testes de função tireoidiana normal e não possuíam anormalidades congênitas; ao exame de imagem, apresentavam a glândula tireoidiana morfologicamente normal.³²

Figura 4. Heredograma e eletroferograma da família portadora da mutação p.R73S.³²
Heredograma não disponível.



VI.3 Aspectos clínicos

Todos os pacientes apresentaram HC. Fenda palatina foi encontrada em 87,5%, disgenesia tireoidiana em 87,5%, atresia de coanas em 62,5%, dismorfismo facial em 62,5% (Quadro 3).^{14,28,29,30-32} Dismorfismo facial caracteriza-se por hipertelorismo, implantação baixa das orelhas, boca pequena e septo nasal oblíqua. Apenas dois pacientes realmente apresentaram a Síndrome de Bamforth-Lazarus por completo.^{14,32}

Quadro 3. Análise clínica dos pacientes encontrados nos artigos selecionados.

	p.A65V (dois pacientes)	p.S57N (dois pacientes)	p.R102C	p.F137S	p.N132D	p.R73S
Hipotireoidismo Congênito	(I)+ (II)+ Ambos Agenesia	(I)+ (II)+ Ambos Agenesia	+ Tópica	+ Hipoplasia	+ Agenesia	+ Agenesia
Dismorfismo facial	(I)- (II)+	(I)+ (II)+	+	+	-	-
Atresia de coanas	(I)+ (II)+	(I)- (II)-	+	+	-	+
Fenda palatina	(I)+ (II)+	(I)+ (II)+	+	+	-	+
Icterícia neonatal	(I)- (II)+	(I)- (II)+	-	-	-	-
Atraso desenvolvimento neuropsicomotor	(I)+ (II)-	(I)+ (II)+	-	-	+	-

Nem todos os pacientes com HC devido à disgenesia tireoidiana, fenda palatina e atresia de coanas apresentam mutações do gene *FOXE1*: em um estudo, de 8 pacientes com disgenesia tireoidiana e fenda palatina, apenas um tinha realmente uma mutação.³² Em outro estudo, foram averiguados 13 pacientes com disgenesia tireoidiana, mas sem fenda palatina ou atresia de coanas necessariamente, e foi encontrado um paciente com mutação nesse gene.³¹ Os demais estudos foram relatos de caso, não atestaram se houve uma coorte prévia.

VI.4 Análise funcional

p.A65V: Os dois pacientes apresentaram uma mutação no gene *FOXE1*, em uma região altamente conservada – no domínio *forkhead*, com padrão homozigótico *missense* no nucleotídeo 196, com uma substituição de alanina para valina no códon 65 (A65V). A proteína mutada teve sua função de transcrição altamente reduzida, devido a sua ligação e ativação do gene promotor desprezível. Porém, a proteína mutante apresentava expressão gênica normal.¹⁴

p.S57N: Os dois paciente apresentaram uma mutação no gene *FOXE1*, em uma região altamente conservada – no domínio *forkhead*, com padrão homozigótico *missense* no nucleotídeo 169, com uma substituição de serina para asparigina no códon 57 (S57N). A proteína mutada teve sua função de transcrição reduzida, devido a sua ligação e ativação do gene promotor mais fraca do que a do tipo selvagem, porem presente, alcançado aproximadamente 75% da transcrição através da proteína selvagem. A proteína mutante, ainda, apresentava expressão normal.²⁸

p.R102C: O paciente apresentou uma mutação no gene *FOXE1*, em uma região altamente conservada – no domínio *forkhead*, com padrão homozigótico *missense* no nucleotídeo 304, com uma substituição de arginina para cisteína no códon 102 (R102C). A proteína mutada teve sua função de transcrição altamente reduzida, devido a sua ligação e ativação do gene promotor desprezível. A expressão gênica da proteína mutante não foi relatada no estudo.³⁰

- F137S: O paciente apresentou uma mutação no gene *FOXE1*, em uma região altamente conservada – no domínio *forkhead*, com padrão homozigótico *missense* no nucleotídeo 412, com uma substituição de fenilalanina para serina no códon 137 (F137S). A proteína mutada teve sua função de transcrição altamente reduzida, devido a sua ligação e ativação do gene promotor desprezível. A expressão gênica da proteína mutante não foi relatada no estudo.²⁹

- N132D: O paciente apresentou uma mutação no gene *FOXE1*, em uma região altamente conservada – no domínio *forkhead*, com padrão heterozigótico *missense* no nucleotídeo 394, com uma substituição de asparigina para aspartato no códon 132 (N132D). Entre humanos, o resíduo de aminoácido asparigina no códon 132 não era altamente conservado, mas quando comparado entre as espécies apresentava alta conservação. A proteína mutada teve sua função de transcrição levemente reduzida, e a ativação do gene promotor mostrou uma perda de 5% da atividade transcricional em relação a proteína selvagem. A expressão gênica da proteína mutante não foi relatada no estudo.³¹

- R73S: O paciente apresentou uma mutação no gene *FOXE1*, em uma região altamente conservada – no domínio *forkhead*, com padrão homozigótico *missense* no nucleotídeo 217, com uma substituição de arginina para serina no códon 73 (R73S). A proteína mutada mostrou nenhuma alteração na capacidade de ligação da proteína mutante em relação à selvagem. Quanto a atividade transcricional, em ensaio de transfecção, a mutante

apresentou atividade aumentada (1,7 vezes mais do que a normal para transcrição do gene promotor do TG e 1,5 vezes mais na transcrição do promotor da TPO). Já a transfecção em células tireoidianas humanas confirmou a atividade transcricional aumentada no promotor do TG, mas a atividade transcricional do TPO não foi aumentada. Utilizando outros genes envolvidos na transcrição do gene *FOXE1*, como *PAX8* e *NKX2-1*, a ativação do gene mutante também aumentou 2,2 vezes. e ativação do gene promotor desprezível. A expressão gênica da proteína mutante foi igual à selvagem. Já nas células tireoidianas, com a mesma quantidade de plasmídeos colocados nas células HEK293, a proteína mutante foi expressada em níveis maiores do que a selvagem.³²

VI. DISCUSSÃO

Essa é a primeira revisão sistemática sobre mutações no gene *FOXE1*. Os resultados da presente monografia demonstram todas as mutações no gene *FOXE1* associados à HC já apresentadas em estudos publicados, tendo em vista que nenhum artigo que apresentasse essa mutação foi excluído devido a problemas metodológicos. Foram selecionados seis estudos totalizando oito pacientes, sendo maioria masculina (cinco) e em 50% desses pacientes os genitores apresentavam consanguinidade^{14,28,29,30-32}; porém a pequena população impossibilita a conclusão de dados epidemiológicos.

Todas as mutações foram descritas no domínio *forkhead* do tipo *missense* em homozigose, com exceção de um estudo que demonstrou um padrão heterozigótico *missense* (vide quadro 1). A capacidade de ligação ao DNA e sua atividade transcricional pela proteína mutada foi alterada em todos os estudos com exceção de um artigo que demonstrou aumento dessa atividade (vide quadro 1). Todos os pacientes analisados apresentaram HC com agenesia em sua maioria, no entanto alguns apresentaram glândula tópica ou hipoplásica. Além dos sinais e sintomas do HC, atresia palatina e fenda palatina foram os achados clínicos mais comuns (vide Quadro 3).^{14,28,29,30-32}

Com todos os resultados expostos, pode-se afirmar que o gene *FOXE1* possui importância no desenvolvimento embrionário da tireoide, tendo em vista que todos os pacientes exibiram alterações morfofuncionais na glândula e sinais e sintomas de hipotireoidismo, além da maioria dos pacientes também terem apresentado alterações no desenvolvimento embrionário da orofaringe, demonstrando a importância na embriogênese dessa região^{14,28,29,30-32}. Apesar disso, o verdadeiro mecanismo ainda permanece pouco compreendido. Pode-se especular que seja baseada na sua relação com outros importantes genes da ontogênese tireoidiana e orofaríngea^{2,7} e na ativação e inibição de outros genes possivelmente ligados a ontogênese tireoidiana.²⁸

Carré A et al, 2014, demonstrou dados conflitantes ao previamente visto. Foi encontrado uma mutação homozigótica *missense* no domínio *forkhead* R73S que teve como consequência uma produção da proteína mutada normal e a atividade transcricional surpreendentemente aumentada, sendo, assim, classificada como mutação com ganho de função. Nesse caso, o paciente apresentou fenótipo muito semelhante aos demais pacientes, sugerindo que ambos os mecanismos podem induzir o mesmo quadro clínico. Os estudos

bioquímicos conduzido pelos autores não foi capaz de detectar qual a característica da proteína mutada foi responsável por esse achado. Especulou-se que o ganho de função pode estar ligado à degeneração do broto tireoidiano através da apoptose, como já foi demonstrado em outros estudos para o Pax8.³²

Castanet M et al, 2010, foi o primeiro a demonstrar um paciente que apresentava a mãe heterozigota para a mutação encontrada no filho (F137S) e o pai não a apresentava,²⁹ caracterizando, nesse caso, a isodissomia uniparental materna, ou seja, o par cromossômico resulta de um único genitor, através da duplicação de um dos cromossomos do par de homólogos, condição raramente vista.

Já o estudo de Baris I et al, 2006, demonstrou que a mutação no gene *FOXE1* também pode resultar na glândula tireoide tóxica (vista via ultrassonografia e tomografia computadorizada), porém não-funcionante, com o paciente apresentando hipotireoidismo bioquímico grave ao nascer e no seu seguimento, e sem captação de I¹³¹ através da cintilografia.³⁰ Este achado indica que a mutação nesse gene pode trazer consequências funcionais a glândula, porém sem afetá-la morfológicamente, o que não tinha sido observado até então.

Em um estudo conduzido por Kang I et al (2009) na Malásia, foi realizado um rastreio mutacional em 34 pacientes com HC. Surpreendentemente, um paciente apresentou mutação no gene *FOXE1* sem atresia de coanas, dismorfismo facial e fenda palatina, o que não tinha sido relatado ainda na literatura. Em concordância com esses achados, Carre et al (2014) fez um rastreio de mutações no gene *FOXE1* em oito pacientes com HC por disgenesia tireoidiana e fenda palatina, porém apenas um paciente foi identificado mutação nesse gene.³² Estes resultados denotam que a máxima de realizar o rastreio desse gene apenas em pacientes com a clínica mais comum para essa patologia (vide algoritmo 1) pode ser falho.³¹

VII. CONCLUSÃO

Podemos concluir, então, que os pacientes que apresentam mutação do gene *FOXE1* possuem variabilidade clínica, fenotípica e genotípica, sendo ainda pouco compreendida em seus aspectos biomoleculares e, desta forma, não podemos afirmar com alto grau de certeza quando realizar o rastreio de mutações do gene *FOXE1* por existirem dados conflitantes. O que pode ser mais recomendável, ponderando-se os custos com análise genética e o fato de apenas um paciente não ter apresentado a clínica habitual, realizar-se o rastreio apenas em pacientes com HC e fenda palatina ou atresia de coanas. Torna-se mister novos estudos biomoleculares e de rastreio para melhor compreensão da função do gene *FOXE1* e sua interação com outros genes.

VIII. SUMMARY

Forkhead box protein E1 gene mutation and Congenital Hypothyroidism: systematic review. **Introduction:** The Forkhead box protein E1 gene (*FOXE1*) is a winged helix / forkhead domain family member and was primarily identified as a thyroid specific nuclear protein. When mutation occurs in this domain, the Bamforth-Lazarus syndrome and its variations can happen, consisting of congenital hypothyroidism (CH) due to thyroid dysgenesis, cleft palate, spiky hair, bifid epiglottis and choanal atresia. **Objectives:** to systematically review the mutations in *FOXE1* human gene associated with CH and its genotype-phenotype spectrum. **Methods:** A systematic review was based on the PRISMA methodology. The process of studies selection was carried out in PUBMED, SCIELO, LILACS and OMIM. It was included clinical and molecular studies which proved a *FOXE1* gene mutation and showed functional analysis of mutated protein. **Results:** It was found 73 articles, but only six articles met eligibility criteria. Six mutations were found in eight participants. All patients had mutations in the forkhead domain and also had thyroid dysgenesis, except for one that presented topical thyroid. Cleft palate and choanal atresia were common findings. The DNA binding capacity and its transcriptional activity by mutated protein was harmed in all studies except for one article that showed increase in this activity. **Conclusion:** *FOXE1* gene mutation has high clinical, phenotypic and genotypic variability and it is still poorly understood in its biomolecular aspects. We can not state with a high degree of certainty when it should be performed a screening for *FOXE1* mutations due to conflicting data. The screening is recommended only in patients with CH and cleft palate or choanal atresia, considering genetic analysis cost and the fact that only one patient did not present the usual signs and symptoms.

Keywords: 1. Mutations 2. *FOXE1* 3. Congenital hypothyroidism

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moore KL. Fundamentos de Anatomia Clínica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 501.
2. De Felice M, Di Lauro R. Thyroid Development and Its Disorders: Genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev.* 2004;25:722-46.
3. Van Vliet G. Development of the thyroid gland: lessons from congenitally hypothyroid in mice and men. *Clin Genet.* 2003;63:445-455.
4. De Felice M, Ovitt C, Biffali E, et al. A mouse model for hereditary thyroid dysgenesis and cleft palate. *Nat Genet.* 1998;19:395-398.
5. Moore KL, Persaud TVN. *Embriologia Clínica.* 2008. 8ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier; 2004. p. 576.
6. Trueba SS, Auge J, Mattei G, et al. PAX8, TITF1, and FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:455-462.
7. Parlato R, Rosica A, Rodriguez-Mallon A, et al. An integrated regulatory network controlling survival and migration in thyroid organogenesis. *Dev Biol.* 2004;276:464-475.
8. Kratzsch J, Pulzer F. Thyroid gland development and defects. *Best Pract Res Clin Endocrinol and Metab.* 2008;22:57-75.
9. Fagman H, Grande M, Gritli-Linde A, Nilsson M. Genetic deletion of sonic hedgehog causes hemiagenesis and ectopic development of the thyroid in mouse. *Am J Pathol.* 2004;164:1865-1872.
10. Xu PX, Zheng W, Laclef C, Maire P, Maas RL, Peters H, Xu X. *Eya1* is required for the morphogenesis of mammalian thymus, parathyroid and thyroid. *Development.* 2002;129:3033-3044.
11. Amendola E, De Luca P, Macchia PE, et al. A mouse model demonstrates a multigenic origin of congenital hypothyroidism. *Endocrinology.* 2005;146:5038-5047.
12. Civitareale D, Lonigro R, Sinclair AJ, Di Lauro R: A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO Journal* 1989; 8(9): 2537-2542.

13. Santisteban P., Acebron A., Polycarpou-Schwarz M., Di Lauro R.: Insulin and insulin-like growth factor I regulate a thyroid-specific nuclear protein that binds to the thyroglobulin promoter. *Mol Endocrinol* 1992; 6(8): 1310-7.
14. Clifton-Bligh RJ, Wentworth JM, Heinz P, Crisp MS, John R, Lazarus JH, Ludgate M, Chatterjee K: Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. *Nature Genetics* 1998; 19: 399-401.
15. Chadwick BP, Obermayr F, Frischauf AM: FKHL15, a new human member of the forkhead gene family located on chromosome 9q22. *genomics* 1997; 41: 390-396.
16. Zannini M, Avantaggiato V, Biffali E, Arnone MI, Sato K, Pischetola M, Taylor BA, Phillips SJ, Simeone A, Di Lauro R: TTF-2, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of the differentiation. *The EMBO Journal* 1997; 16(11): 3185-3197.
17. Ortiz L, Aza-Blanc P, Zannini M, Cato ACB, Santisteban P: The interaction between the Forkhead Thyroid Transcription Factor TTF-2 and the Constitutive Factor CTF/NF-1 is required for efficient hormonal regulation of the Thyroperoxidase gene transcription. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274(21): 15213-15221.
18. Perrone L, Di Magliano MP, Zannini M, Di Lauro R: The thyroid transcription factor 2 (TTF-2) is a promoter-specific DNA-binding independent transcriptional repressor. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2000; 275: 203-208.
19. Trueba S. S., Auge J., Mattei G., et al.: PAX8, TITF1, and FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(1): 455-62.
20. Sequeira M., Al-Khafaji F., Park S., et al.: Production and application of polyclonal antibody to human thyroid transcription factor 2 reveals thyroid transcription factor 2 protein expression in adult thyroid and hair follicles and prepubertal testis. *Thyroid* 2003; 13(10): 927-32.
21. De Felice M, Ovitt C, Biffali E, Rodriguez-Mallon A, Arra C, Anastassiadis K, Macchia PE, Mattei MG, Mariano A, Schöler H, Macchia V, Di Lauro R: A mouse model for hereditary thyroid dysgenesis and cleft palate. *Nature Genetics* 1998; 19: 399-401.
22. Canadian Task Force on Preventive Health Care. Disponível em: http://www.ctfphc.org/abstracts_printable/Ch18abs.html

23. Fisher DA, Dussault JH, Foley TP Jr, Klein AH, LaFranchi S, Larsen PR, et al. Screening for congenital hypothyroidism: results of screening one million North American infants. *J Pediatr.* 1979;94:700-5.
24. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Hipotireoidismo Congênito. PROJETO DIRETRIZES. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina; 2005. p:10.
25. Fort PF, Brown RS. Thyroid disorders in infancy. In: Lifshitz F. *Paediatric Endocrinology.* New York; 2000. p: 369-399.
26. Ramos HE, Nesi-Franca S, Maciel RM. [New aspects of genetics and molecular mechanisms on thyroid morphogenesis for the understanding of thyroid dysgenesis]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52:1403-1415.
27. Park SM, Chatterjee VKK. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet* 2005;42:379-389.
28. Castanet M et al. A novel loss-of-function mutation in TTF-2 is associated with congenital hypothyroidism, thyroid agenesis and cleft palate. *Human Molecular Genetics,* 2002, Vol. 11, No. 17
29. Castanet M et al. Maternal Isodisomy for Chromosome 9 Causing Homozygosity for a Novel FOXE1 Mutation in Syndromic Congenital Hypothyroidism *J Clin Endocrinol Metab,* August 2010, 95(8):4031–4036.
30. Baris I, Arisoy AE, Smith A, et al. A novel missense mutation in human TTF-2 (FKHL15) gene associated with congenital hypothyroidism but not athyreosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Oct;91(10):4183-7.
31. Kang IN, Musa M, Harun F, et al. Characterization of mutations in the FOXE1 gene in a cohort of unrelated Malaysian patients with congenital hypothyroidism and thyroid dysgenesis. *Biochem Genet.* 2010 Feb;48(1-2):141-51.
32. Carré A, Hamza RT, Kariyawasam D, et al. A novel FOXE1 mutation (R73S) in Bamforth-Lazarus syndrome causing increased thyroidal gene expression. *Thyroid.* 2014 Apr;24(4):649-54.
33. Mcinnes, R, Nussbaum, L, Willard, F. Thompson & Thompson: *Genética Médica,* 6ª ed. São Paulo. Editora Elsevier, 2002.
34. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, et al. *Biologia Celular e Molecular,* 7ª ed. Porto alegre. Editora Panamericana, 2005.

35. Watson J, Baker T; Bell S. *Biologia Molecular do gene*, 7^a ed. São Paulo. Editora Artmed, 2015.
36. Bamforth JS, Hugues IA, Lazarus JH, Weaver CM, Harper PS: Congenital hypothyroidism, spiky hair, and cleft palate. *Journal of Medical Genetics* 1989; 26: 49-51.
37. Cuesta I, Zaret K, Santisteban P. The Forkhead Factor FoxE1 Binds to the Thyroperoxidase Promoter during Thyroid Cell Differentiation and Modifies Compacted Chromatin Structure. *Mol. Cell. Biol.* 2007; 27(20):7302-7314.
38. Fernández LP, López-Márques, Santisteban P. Thyroid transcription factors in development, differentiation and disease. *Nat. Rev. Endocrinol.* advance online publication 28 October 2014; doi:10.1038/nrendo.2014.186.