

¿DE LA CLÍNICA AL GEN, O DEL GEN A LA CLÍNICA?

Hipotiroidismo congénito central: nuevos fenotipos, nuevos genes

Marta García y José Carlos Moreno

Laboratorio Molecular de Tiroides. Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM). Hospital Universitario La Paz. Madrid.

El Hipotiroidismo Congénito Central (HCC) es un grupo heterogéneo de patologías causadas por la disminución de la síntesis, secreción o bioactividad de la hormona tirotrópica (TSH), que no consigue estimular correctamente una glándula tiroidea completamente normal. Esta patología no es detectada en el cribado neonatal de HC por TSH realizado en España y en la mayoría de países europeos. Por este motivo suele ser una entidad infra-diagnosticada, que se revela mayoritariamente, pero no siempre, con una sintomatología clínica moderada, sin retraso psicomotor grave, y en el que destaca el retraso de crecimiento. La base molecular del HCC es ampliamente desconocida. Tan solo se han identificado mutaciones/delecciones en tres genes como causa de HCC en humanos: los clásicos de *TSHB* y *TRHR*, que codifican la subunidad beta de la TSH y el Receptor de TRH respectivamente, y recientemente, el gen *IGSF1* (*Immunoglobulin Superfamily factor 1*) cuyos defectos se han asociado a un hipotiroidismo hipofisario que asocia un macroorquidismo.

Dada la complejidad fisiológica de la regulación central de la síntesis de hormonas tiroideas, es obvio que los defectos genéticos que conducen a HCC han de abarcar necesariamente una base genética más amplia, más genes que, por el momento, son desconocidos. La identificación de los mismos puede ser la clave de un mejor conocimiento de la fisiopatología molecular de la enfermedad, un objetivo que reclama un mayor índice de sospecha clínica de esta patología en las consultas de Endocrinología Pediátrica, y su investigación etiológica detallada del HCC con determinaciones hormonales seriadas, estudios morfológicos de hipotálamo e hipófisis y los tests de estimulación de TSH (test de TRH) o los ensayos *in vitro* de bioactividad de la TSH.

CONTROL CENTRAL DEL EJE HORMONAL TIROIDEO

Autoregulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides

Las hormonas tiroideas son esenciales para el correcto desarrollo, diferenciación y función de prácticamente todos los sistemas del organismo, regulando el metabolismo celular e interviniendo críticamente en el desarrollo del cerebro tanto en el período embrionario como en el fetal y postnatal. Por ello, su síntesis y secreción están muy finamente controladas y reguladas desde estructuras centrales, tanto hipotalámicas como hipofisarias. Las hormonas tiroideas se sintetizan en la glándula tiroidea en forma mayoritaria de tiroxina (T4), pero también de tri-yodotironina (T3), la forma biológicamente activa. En los tejidos, un sistema de *desyodasas de yodotironinas* activan (DIO1, DIO2) o inactivan (DIO3) estas yodotironinas según las necesidades individuales y específicas de cada tejido¹.

En la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides intervienen dos señales hormonales principales: la TRH (*Thyrotropin Releasing Hormone*) hipotalámica y la tirotrópica o TSH (*Thyroid Stimulating hormone*) hipofisaria, que modulan la síntesis y secreción final de T4 y T3 por la glándula tiroidea (Figura 1A). En las células tirotrópicas de la hipófisis convergen las señales reguladoras del eje tiroideo, tanto las de carácter inhibitorio (principalmente T4 y T3, pero también dopamina y somatostatina desde el hipotálamo) como las de carácter estimulador (TRH fundamentalmente), constituyendo el tipo celular clave en la regulación hormonal tiroidea².

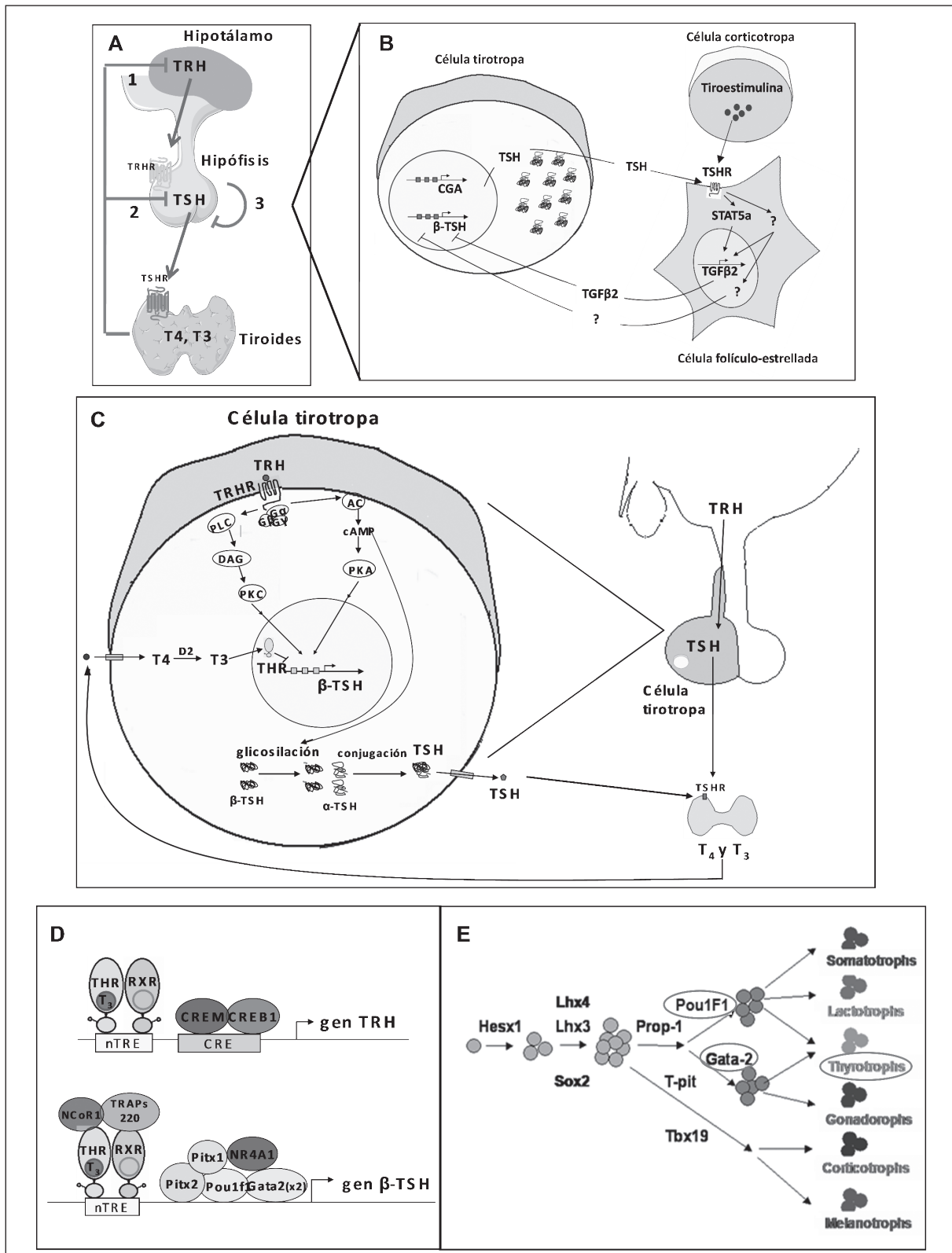


Figura 1. Regulación hormonal y transcripcional del eje tiroideo. (A) “Asas” de retroalimentación negativa del eje hormonal tiroideo: (1) larga, (2) corta, (3) ultracorta. (B) “Asa” ultracorta de retroalimentación negativa por las células foliculo-estrelladas de la hipófisis y las células corticotropas liberadoras de tiroestimulina. (C) Cascada de señalización de síntesis, bioactividad y secreción de TSH desde el receptor de TRH. (D) Control transcripcional en genes *TRH* y *TSH-β*. (E) Factores de transcripción implicados en el desarrollo y función de los distintos linajes de células hipofisarias.

Como se ha dicho, la estrecha regulación de la secreción de hormonas tiroideas se ejerce a través de 3 "asas" o circuitos de retroalimentación negativos que tienen lugar a nivel central: un asa larga (acción de T3, T4 en el hipotálamo), otra corta (T3, T4 sobre células tirotropas hipofisarias) y se postula otra ultracorta (por acción de la propia TSH a nivel local), de más reciente descripción, que tiene también lugar en la hipófisis (Figura 1A).

Asa larga de retroalimentación negativa (tiroides-hipotálamo)

Las hormonas tiroideas son las principales ejecutoras de la regulación negativa del eje, actuando en hipotálamo (controlando la secreción de TRH) y en hipófisis (controlando la secreción de TSH).

La TRH u hormona liberadora de tirotropina es un tri-péptido modificado (piroGlu-His-Pro) que se produce en el núcleo paraventricular (NPV) de la parte anterior del hipotálamo. Se sintetiza en forma de un pro-péptido precursor de 242 aminoácidos que es procesado de forma post-traducciona por enzimas endopeptidasas (las proconvertasas 1 y 2, codificadas por los genes *PCSK1* y *2*) que liberan 5 moléculas maduras de TRH por cada molécula de propéptido. Las moléculas de TRH son secretadas en la eminencia media para llegar hasta la hipófisis donde estimulan la síntesis, liberación y bioactividad de la TSH a través de su unión a receptores específicos (TRHR) en la membrana plasmática de la célula tirotrópica^{3,4}. Una vez secretada en la eminencia media, la TRH puede ser degradada por el enzima piroglutamil peptidasa II (PPII), lo que sugiere una regulación adicional de la cantidad final de moléculas de TRH que llegan a estimular la célula tirotrópica hipofisaria⁵.

La fisiología del TRH es gobernada en sentido negativo a través de las hormonas tiroideas. Éstas (T4) llegan a las neuronas del hipotálamo (NPV) productoras de TRH atravesando la barrera hemo-encefálica a través de transportadores específicos (OATP1C1) y desde el líquido cefalorraquídeo a través de los tanicitos, células de origen glial localizadas en la pared ventrolateral del tercer ventrículo. Los tanicitos expresan tanto el transportador de hormonas tiroideas MCT8, que permite el paso de T4 a su interior celular, como la desyodasa DIO2, que activa la T4 hacia T3 que, a su vez, pasará a las neuronas hipotalámicas y ejercerá los efectos transcripcionales negativos sobre el promotor del gen de *TRH*. Como DIO2 regula la disponibilidad intracelular de T3, niveles bajos de DIO2 conducirían a niveles disminuidos de T3 en el hipotálamo que podrían perturbar la regulación del eje tiroideo. Estas neuronas hipofisiotropas también expresan DIO3, que degrada la T3 a productos inactivos. Se sabe que la expresión de DIO3 es estimulada por

T3, lo que sugiere la existencia de un mecanismo de regulación local para compensar posibles variaciones en la disponibilidad intracelular de T3⁶⁻⁸.

Por último, la presencia de T3 también estimula la expresión de la piroglutamil peptidasa II (PPII) en los tanicitos. Estas células interactúan con los axones terminales de las neuronas hipotalámicas del NPV y pueden por tanto degradar el exceso de TRH liberada en la eminencia media. Así, la T3 parece regular negativamente la secreción hipotalámica de TRH tanto en sus aspectos de síntesis como de degradación del tripéptido^{5,9}.

Asa corta de retroalimentación negativa (tiroides-hipófisis)

En la hipófisis, la hormona liberadora de tirotropina (TRH), secretada desde el hipotálamo, estimula su receptor específico (TRHR) localizado en la membrana plasmática de las células tirotropas. Este receptor presenta siete dominios transmembrana y está acoplado a proteínas G, siendo *GNAS* el gen que codifica la subunidad estimuladora G α . La TRH unida a su receptor media la activación de la adenilato ciclasa, que conduce a un aumento de AMPc intracelular que, en último término, induce la transcripción del gen *TSHB* a través de CREB y CREB-binding protein (CBP)¹⁰. *TSHB* codifica la subunidad beta de la TSH, monómero específico del heterodímero que constituye la TSH activa. Otra vía de señalización alternativa sería la activación de fosfolipasa C (PLC) que produce la movilización de calcio de los compartimentos intracelulares al citoplasma, proceso que induce la secreción de la hormona¹¹ (Figura 1C).

Tras la activación del receptor de TRH se produce su rápida desensibilización. El receptor es fosforilado en residuos Ser/Thr de su cola citoplasmática por la GPCR kinasa 2 (GRK2). Posteriormente las arrestinas se encargan de internalizar al receptor por endocitosis, impidiendo rápidamente su disponibilidad para ser estimulado por más TRH. Una vez que la TRH desaparece del medio, la fosfatasa 1 comienza a desfosforilar los receptores de TRH de los endosomas que serán transportados nuevamente a la membrana¹².

La señalización por el receptor de TRH no sólo induce la transcripción del gen *TSHB*. También influye directamente en las modificaciones post-traduccionales (esencialmente la glicosilación) que se llevan a cabo en la TSH y que le otorgan una mayor bioactividad. Existen distintas formas de TSH glicosilada según el tipo de glúcidos que se añadan a asparagina (glicosilación-N) y la conformación final de cadenas de hidratos de carbono que se produzcan. Por ejemplo, un alto contenido en ácido siálico disminuye la actividad biológica de

la TSH y aumenta su vida media¹³. Por el contrario, las formas no-sialiladas de TSH, con mayor bioactividad, son rápidamente capturadas y degradadas por receptores de asialo-glicoproteínas de los hepatocitos. Las diferentes formas de glicosilación de la TSH pueden, pues, contribuir a la homeostasis tiroidea y estar implicadas en patología: un aumento de TSH sialilada se traduciría en una menor bioactividad y por tanto en un hipotiroidismo central¹⁴. Los distintos patrones de glicosilación de TSH podrían también explicar la falta de correlación entre los niveles de TSH y T4 libre en algunos pacientes con hipotiroidismo central.

Por último, los monómeros de TSH (α y β) se conjugan formando la TSH biológicamente activa que es liberada desde la hipófisis al tiroides, constituyendo el estímulo principal para la producción hormonal.

Las hormonas tiroideas regulan negativamente la producción de la tirotropina (TSH) en células tirotropas. La tiroxina (T4) y en menor medida la triyodotironina (T3) llegan a la célula desde el tiroides por circulación sistémica, donde la T4 es desyodada a T3 por la DIO2. La triyodotironina (T3), implicada directamente en la regulación transcripcional negativa, actúa por unión al receptor nuclear de hormona tiroidea (TR). Este complejo interacciona con elementos de respuesta (TRE) localizados en el promotor de la *TSHB* inhibiendo en último término la expresión del gen.

Asa ultracorta de retroalimentación negativa (hipófisis: células tirotropas y folículo-estrelladas)

También se ha identificado en modelos animales un sistema de control de la secreción de TSH de carácter local que implica a las células folículo-estrelladas del lóbulo anterior de la hipófisis, que expresan el Receptor de TSH (TSHR). La TSH sería secretada al espacio extracelular de la célula tirotrópica e interaccionaría con los receptores de TSH localizados en las células folículo-estrelladas, lo que activaría la vía de señalización JAK/STAT5a que induce la expresión de TGF β 2, un factor paracrino que actuaría sobre las células tirotropas regulando negativamente la secreción de TSH¹⁵ (Figura 1B). Asimismo, este efecto paracrino y autorregulatorio de la propia TSH podría también estar implicado en la secreción pulsátil de la TSH, contrarrestando desde la propia hipófisis el aumento de los niveles de TSH durante los picos pulsátiles. Ha de recordarse que, si bien la pulsatilidad se genera principalmente por señales hormonales hipotalámicas, se ha comprobado en modelos animales que el perfil secretorio pulsátil también se mantiene en hipófisis aisladas, desconectadas del hipotálamo. Todo ello sugiere fuertemente la presencia de mecanismos locales de control cuantitativo (magnitud)

y cualitativo (pulsatilidad) de la secreción de TSH dentro de la propia hipófisis¹⁶.

Pulsatilidad de la secreción de TSH y TRH

Al igual que otras hormonas hipofisarias, la TSH se libera de forma pulsátil, con una media de amplitud de 0,6 mU/L en los pulsos y una frecuencia de 5-20 pulsos por día. Estos pulsos tienen lugar sobre un ritmo circadiano que conduce a una secreción máxima de TSH a medianoche que disminuye progresivamente hasta la tarde del día posterior. El mecanismo mediante el cual tiene lugar esta pulsatilidad en la secreción de tirotropina es en gran parte desconocido, aunque se sabe que es de origen fundamentalmente hipotalámico^{17, 18}.

A su vez, la TRH se secreta también de forma pulsátil en el hipotálamo¹⁹, sin embargo parece que la TRH modula exclusivamente la amplitud de los pulsos de TSH, pero no la frecuencia de éstos²⁰.

Otras hormonas en la regulación del eje tiroideo: la tiroestimulina

Además de las señales principales que intervienen en la regulación del eje tiroideo, se ha identificado recientemente un nuevo miembro de la familia de las hormonas glicoproteicas, la tiroestimulina, que podría participar en la homeostasis tiroidea pues es capaz de estimular potentemente el receptor de TSH. Esta hormona es un dímero formado por las subunidades GPA2 y GPB5. El complejo A2/B5 es capaz de interaccionar con el receptor de tirotropina y estimula de igual manera la cascada de señalización por AMPc, que la TSH. De hecho la tiroestimulina compete con la TSH por el receptor, aunque su acción es 7 veces más potente que la de la TSH. Mientras GPA2 es una proteína de expresión ubicua, GPB5 presenta un patrón de expresión más restringido que incluye hipófisis, tiroides y ovarios. Por tanto, la tiroestimulina se expresaría efectivamente en dos de los órganos fundamentales del eje tiroideo: hipófisis y tiroides, ambos tejidos con presencia del Receptor de TSH²¹. Dentro de la hipófisis anterior se ha logrado demostrar la co-expresión de ambas subunidades de la tiroestimulina en células corticotropas, que serían el origen de la secreción local de esta hormona²². Esto sugiere fuertemente un efecto paracrino hipofisario que, a través de las células folículo-estrelladas que expresan el TSHR, pudiera modular o influenciar la secreción de la propia TSH. De hecho aún no se ha logrado demostrar la presencia de la tiroestimulina en suero, lo que sugeriría una función endocrina clásica, con efectos a distancia del origen y secreción de la hormona.

La función real de la tiroestimulina en fisiología tiroidea no está aún establecida. En humanos aún no se ha descrito ninguna mutación en los genes

que codifican las subunidades de la tiroestimulina. Sin embargo, se han identificado pacientes eutiroides con bocio y niveles de TSH indetectables, en ausencia de alteraciones tiroideas y centrales. Estos datos sugieren la presencia de un factor como la tiroestimulina que estaría estimulando el tiroides manteniendo a los pacientes eutiroides²³. Además, en ratones a los que se administró tiroestimulina se ha observado un fenotipo de hipertiroidismo dosis-dependiente que incluye la elevación de T4, sugiriendo un efecto a nivel primario del tiroides²².

Control transcripcional de la secreción de TRH y TSH

Gen de TRH

Control transcripcional negativo. La T3 a través de la unión a su receptor de hormona tiroidea (TR β o TR α) ejerce un control negativo potente sobre la síntesis y liberación de la TRH en neuronas del NPV del hipotálamo. El complejo TR-T3 por interacción con elementos de respuesta (TRE) recluta una serie de factores co-represores o co-activadores nucleares implicados en la regulación negativa, como SRC1 (steroid receptor coactivador) que es necesario para la represión de la expresión del gen *TRH* (como también del gen *TSHB*) inducida por T3⁽²⁴⁾ (Figura 1D). Sin embargo, las hormonas tiroideas no son el único control negativo del gen *TRH*: durante el ayuno, determinadas células hipotalámicas producen Neuropeptido Y (NPY) que estimula a su receptor (NPYR) en las células del NPV, lo que desencadena cascadas de inhibición de la transcripción del gen *TRH*⁽²⁵⁾.

Control transcripcional positivo. La producción de TRH está controlada positivamente a nivel transcripcional por la presencia de elementos reguladores en el promotor del gen *TRH*, donde se unen factores como CREB (*cAMP response element binding protein*) y CREM (*cAMP response element modulator*) que activan la transcripción del gen²⁶ (Figura 1D). CREB aumenta en las células del NPV (productoras de TRH) a consecuencia del aumento de AMPc derivado de la estimulación del Receptor de melanocortina (MSHa), denominado MC4R, que es un receptor de membrana acoplado a proteínas G. La MSHA que es producida y secretada por células del vecino núcleo arcuato (NA) desde su precursor, la proopiomelanocortina (POMC) se sabe que es inhibida transcripcionalmente por el NPY²⁵. Por tanto, el NPY (y por tanto la ingesta) parece ser un regulador maestro de la secreción de TRH a través de 2 mecanismos: por un lado, inhibiendo directamente la transcripción del gen en células NPV a través del NPYR, e indirectamente por reducción de la síntesis de melanocortina en el NA.

Gen de la TSHB

Control transcripcional negativo: Como se ha dicho, la T3 ejerce un control negativo en la síntesis y liberación de la TSH en células tirotropas por unión al receptor de hormona tiroidea (TR) y posterior reclutamiento de factores correpresores o coactivadores nucleares implicados en la regulación, como SRC1. En estudios *in vivo* se ha demostrado que NCoR1 (nuclear receptor corepressor) por interacción con TR podría desempeñar un papel regulador "bi-direccional" (positivo y negativo) en la expresión de TSH β ²⁷ (Figura 1D).

Otro posible mecanismo de regulación transcripcional negativa de la *TSHB* es el llevado a cabo por las células foliculo-estrelladas de la hipófisis. No sólo se ha descrito este "asa" ultracorta de regulación negativa sobre la TSH: también sobre el gen de la hormona del crecimiento (*GH*) y de Prolactina (*PRL*). Aunque se postula que la regulación desde las células foliculo-estrelladas se da a través del factor TGF-B2, no se conoce la vía de señalización intracelular tirotrópica que desencadena en último término la inhibición de la síntesis hormonal. No obstante, hay evidencias de que en células lactotropas de rata, la TGF-B2 reduce la expresión de prolactina mediante la inhibición de la proteína quinasa C (PKC), postulándose el mismo mecanismo para la regulación negativa de la TSH²⁸.

Control transcripcional positivo. La hormona TRH es liberada desde el hipotálamo y estimula el receptor de TRH localizado en la membrana celular tirotrópica. La vía de señalización, desencadenada por la estimulación del receptor, activa proteínas quinasas que fosforilan factores que en último término favorecen la activación de factores de transcripción estimuladores de la expresión génica. Este complejo sistema de factores de transcripción tirotrópica incluye POU1F1, GATA2, PITX1, PITX2, NR4A1, TRAP220, NCOR1 (Figura1D). Los factores funcionalmente más relevantes son POU1F1 y GATA2, este último inducido por la cascada de señalización que ejerce el receptor TRH por unión a su ligando TRH.

El factor POU1F1 (anteriormente denominado PIT-1) está formado por dos dominios funcionales, un dominio POU específico y un homeodominio de unión al ADN. Ambos dominios son importantes para la función transcripcional de la proteína sobre los promotores de los genes de las hormonas TSH, GH y PRL, en células tirotropas, somatotropas y lactotropas respectivamente^{29, 30}.

GATA2 no sólo es fundamental en la transcripción de la TSH β sino también de las hormonas gonadotropas (FSH, LH). Ambos factores, GATA2 y POU1F1 interaccionan participando en la diferenciación de las células tirotropas de la hipófisis. Recientemente

Tabla 1. Modelos animales y celulares de hipotiroidismo central (HC) y alteraciones centrales de la regulación del eje tiroideo: genes manipulados genéticamente, función de la proteína codificada y fenotipos hormonales asociados.

| HC | Modelo | Gen | Función | Fenotipo | R |
|-------------------------------------|-------------|-------------|--|---|----|
| HC Hipotalámico | Ratón KO | TRH | Hormona liberadora de Tirotrópina | ↑ leve TSH sérica con ↓ de bioactividad | 35 |
| | Ratón KO | PCSK1 y 2 | Endopeptidasa que genera los péptidos activos de TRH | ↓ péptidos activos de TRH generados a partir de la pro-TRH | 36 |
| | Rata Tto | PPII | Peptidasa que degrada e inactiva la TRH | ↑ TRH secretada en hipotálamo y ↑TSH en suero (hipertiroidismo) | 5 |
| | Ratón KO | CREB1 | Factor de transcripción: regula positivamente la síntesis de TRH. | ↑TRH, TSH N, T4 N y T3 N por mecanismo compensatorio por ↑ expresión CREM | 25 |
| HC Hipofisario | Células GH4 | NR4A1 | Receptor nuclear: regula positivamente la síntesis de TSH | ↓TSH | 33 |
| | Ratón KO | CGA/GSU | Subunidad alfa de las hormonas TSH, LH y FSH | ↓TSH e hipogonadismo hipogonadotropo | 37 |
| | Ratón KO | TRAP220 | Coactivador de receptores nucleares | ↓ TSH , ↓ crecimiento postnatal | 38 |
| | Ratón KO | GATA2 | Factor de transcripción: regula positivamente la síntesis de TSH, FSH y LH | ↓ masa células tirotrópicas ↓TSH , ↓FSH y LH, conserva la fertilidad | 39 |
| | Ratón KO | IGSF1 | Posible receptor de membrana implicado en regulación hipofisaria | ↓TSH, ↓T3, ↓expresión TRHR y ↑peso | 40 |
| | Ratón IS | POU1F1 | Factor de transcripción: regula positivamente la síntesis de TSH, PRL y GH | ↓TSH, GH (enanismo) | 41 |
| | Ratón IS | PROP1 | Factor de transcripción implicado en diferenciación y organogénesis celular hipofisaria | ↓TSH, ↓GH, ↓PRL | 41 |
| | Ratón KO | PITX1 | Factor de transcripción: regula positivamente la síntesis de TSH | Tamaño normal hipófisis, ↓ expresión Lhx3 | 41 |
| | Ratón KO | PITX2 | Factor de transcripción importante en organogénesis, regula positivamente la síntesis de TSH | Hipoplasia pituitaria, ↓tamaño tiroides, ↓ expresión POU1F1, ↓TSH y T4 N por mecanismo compensatorio por ↑ expresión PITX1. Defectos en organogénesis bolsa Rathke, ojo, corazón, craneofaciales. | 32 |
| | Ratón KO | HESX1 | Factor de transcripción implicado en diferenciación de pituitaria anterior y desarrollo de nervio óptico y cerebro | Displasia de bolsa de Rathke, cerebro y ojos | 42 |
| Alteraciones regulatorias centrales | Ratón IS | DIO1 | Desyodasa 1 de T4 a T3 (activadora) | Hipertirotropinemia, TSH y T3 N | 43 |
| | Ratón KO | DIO2 | Desyodasa 2 de T4 a T3 (activadora) | Resistencia hipofisaria a T4, ↑T4, ↑TSH, T3 N | 44 |
| | Ratón KO | DIO3 | Desyodasa 3 de T3 a T2 (inactivadora) | Alteraciones cerebrales, ↑T3 perinatal, ↓T3 y T4 circulantes en adulto | 45 |
| | Ratón KO | TR α | Receptor de hormona tiroidea α | ↓T4 y TSH N | 46 |
| | Ratón KO | TR β | Receptor de hormona tiroidea β | Resistencia central a T3, ↑T4, ↑TSH, bocio | 46 |

KO: knockout, IS: inbred-strain. Tto: animal tratado con T4 (hipertiroidismo), N: normal, R: referencias bibliográficas

se ha descubierto un tipo de células tirotropas independiente de POU1F1 diferente al conocido ³¹.

PITX1 y PITX2 son dos factores de transcripción de funciones similares y complementarias, que se expresan de forma diferencial a lo largo del desarrollo y contribuyen a la formación de bolsa de Rathke (futura hipófisis), corazón, ojo, cavidad oronasal, dental y maxilares.

En el adulto, PITX2 es un factor necesario para el mantenimiento de la función tiroidea pues regula la expresión de otros factores de transcripción (POU1F1, PROP1) y de la propia TSH β ³². PITX1 está implicado en la respuesta de la hipófisis frente a un hipotiroidismo. Produce un aumento de la biosíntesis y secreción de la TSH cuando los niveles de T3 son bajos. Aunque para obtener una respuesta óptima es necesaria la presencia asociada de PITX2, PITX1 puede suplir las necesidades mínimas en el caso de que el factor PITX2 estuviese alterado en modelos de ratón ³².

Otro factor implicado en la síntesis de tirotrópina es **NR4A1**. Este receptor nuclear huérfano se expresa no sólo en células tirotropas sino también en corticotropas y gonadotropas y está regulado por la cascada de señalización activada por TRH. Estudios in vivo demuestran que NR4A1 activa la transcripción de TSH β , constituyendo un elemento regulador en el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides ³³.

El **complejo TRAP/SMCC** (*Thyroid hormone receptor associated protein complex*) forma parte de la maquinaria de regulación transcripcional celular, regulando positivamente la expresión de numerosos genes por interacción con receptores nucleares. En la hipófisis **TRAP220 (MED1)** favorece la síntesis de la TSH β , aunque el mecanismo a través del cual ejerce su efecto se desconoce. TRAP220 podría actuar por interacción con el receptor de hormona tiroidea (TR) de forma ligando-independiente. Alternativamente, TRAP220 podría actuar como coactivador de otros factores implicados en la transcripción, como POU1F1 o GATA2. Independientemente del mecanismo de actuación, el complejo TRAP desempeña una función esencial en el mantenimiento de la homeostasis de las hormonas tiroideas ³⁴.

MODELOS ANIMALES Y CELULARES DE HCC

La base genética del HCC es en gran parte desconocida en humanos, sobre todo en el caso del HCC hipotalámico. Por ello, se han generado distintos modelos animales o celulares que podrían ayudarnos a identificar mejor en la clínica a pacientes con rasgos fenotípicos similares a los que presentan estos modelos, y aportan conocimientos para establecer una mejor relación fenotipo-genotipo en esta

patología humana, ofreciendo un punto de partida para la elección del gen candidato más adecuado en el diagnóstico molecular de los pacientes con HCC, o la identificación de defectos de nuevos genes en el HCC humano. La Tabla 1 contiene los modelos pre-clínicos generados *in vivo* hasta el momento que señalan la implicación de los respectivos genes en el hipotiroidismo central, la función de la proteína que codifican y los detalles del fenotipo hipotiroideo encontrado en cada modelo.

HIPOTIROIDISMO CENTRAL EN HUMANOS

Detección del HCC por cribado neonatal

El hipotiroidismo congénito central (HCC) se debe a la disminución total o parcial de la síntesis, secreción o bioactividad de la TSH. Esta patología no es detectada mediante el cribado neonatal del HC realizado en España y la mayoría de países europeos, que detectan precisamente la elevación de los niveles de TSH como marcador "reflejo" del hipotiroidismo, situación que es típica del HC primario o tiroideo, el más frecuente. Cuando se implantó el cribado poblacional masivo de enfermedades metabólicas y de hipotiroidismo en Europa, a principios de los años 80, Holanda optó por detectar todos los tipos de HC utilizando un método basado en la determinación de T4 total en el papel de filtro. Esto permitía la detección de algunos casos de HCC, pero no de todos, como posteriormente se ha evidenciado. En 1995, Holanda mejoró su cribado neonatal de HC añadiendo a la cuantificación de los niveles de T4 total y TSH la de TBG (thyroxin binding globulin), lo que permite calcular el ratio T4t/TBG, que ha resultado muy eficaz como sustituto de la determinación de T4 libre, muy difícil técnicamente en el eluado del papel de filtro. Con esta modificación, la eficacia de detección del HCC se ha triplicado, objetivándose que el HCC alcanza una prevalencia mucho mayor de la que se estimaba, alcanzando 1: 16.000 recién nacidos ⁴⁷. Recientemente, se ha reportado que, utilizando métodos de ELISA en eluado de sangre de papel de filtro para determinar T4 libre, la incidencia global de HCC es de aproximadamente 1 en 31.000 neonatos ⁴⁸.

Diagnóstico e investigación etiológica del HCC

El HCC incluye defectos hipotalámicos e hipofisarios, y en clínica ha de diferenciarse entre ambos mediante la clínica, perfil hormonal, estudios de imagen (Resonancia Magnética Nuclear) y test de TRH. El HCC puede asociarse defectos en otros ejes hormonales (deficiencia combinada de hormonas hipofisarias, DCHP) o bien presentarse de forma aislada ⁴⁹.

La valoración del perfil hormonal es importante para discriminar entre un defecto hipotalámico e hipofi-

sario, pues el primero puede presentarse como una ligera hipertropinemia con baja bioactividad de la TSH (con posible confusión con defectos primarios leves), mientras que el segundo se presenta generalmente con niveles bajos de esta hormona. No obstante, no siempre la valoración hormonal es tan resolutive. Por lo que el test de TRH constituye una herramienta útil en la determinación etiológica del hipotiroidismo central. De forma no rutinaria, nuestro laboratorio realiza ensayos celulares *in vitro* para determinar la bioactividad de la TSH en suero de pacientes con sospecha de HCC.

El test de TRH se comenzó a utilizar a partir de los años 70 para diagnóstico de hipotiroidismo central e hipotiroidismo subclínico, debido a la baja sensibilidad de las determinaciones hormonales en esa década. A partir de los años 90 los ensayos hormonales de 2ª y 3ª generación hacen innecesario el test de TRH para la segunda de sus iniciales indicaciones, pero sigue siendo importante en la diferenciación entre HCC secundario y terciario.

El uso del test no ha estado exento de controversias y algunos autores han cuestionado su utilidad en el diagnóstico y clasificación de pacientes con defectos centrales, argumentando que, la existencia de solapamientos en la respuesta de TSH entre pacientes con defectos hipotalámicos e hipofisarios dificulta la discriminación⁽⁵⁰⁾. Para maximizar la eficacia diagnóstica del test, se necesita hacer un test largo, de 180 minutos y establecer la dinámica individual de secreción de la TSH.

El test se basa en la determinación de la TSH a distintos tiempos y con ello el cálculo de ratios que permitan la valoración de la dinámica y magnitud de la respuesta (15/0 min, 30/0) y la recuperación de la TSH basal (180/0). El hipotiroidismo hipotalámico se valora por criterios cualitativos, se produce un aumento de la magnitud de la respuesta que puede retrasarse en el tiempo y tener una ausencia de recuperación de la TSH basal a las 3 horas. En el hipotiroidismo hipofisario se valoran criterios fundamentalmente cuantitativos, presentando una respuesta disminuida de TSH a la TRH con recuperación completa de la TSH basal a los 180 minutos⁵¹.

Defectos genéticos y fenotipos humanos de HCC

HCC aislado

- **Defectos de la subunidad beta de TSH (gen *TSHB*)**

La mayoría de casos publicados de HCC aislado corresponden a mutaciones en la Subunidad Beta de TSH. Al igual que otros miembros de la familia de hormonas glicoproteicas, la TSH es una proteí-

na *cystine-knot* dimérica compuesta por cadena Alfa y Beta. En el gen de la *TSHB* se han descrito 9 mutaciones diferentes^{52, 53}, que conducen a una deficiencia aislada de TSH de herencia autosómica recesiva. La mutación más frecuente en este gen es una delección de 1 nucleótido en el codon 105 (c.T313del, p.C105Vfs) del exón 3, que lleva a un cambio en el patrón de lectura y a una proteína prematuramente truncada. En este caso, la proteína no se detecta en inmunoensayos rutinarios de TSH y es biológicamente inactiva sobre el receptor de TSH. Con TSH indetectable en suero, no ha lugar realizar un test de TRH. Sin embargo, existen otros casos con la misma mutación donde la TSH es detectable, en los que el test de TRH muestra un incremento insuficiente de TSH, pero la respuesta a Prolactina es completamente normal. En estudios *in vitro* se ha demostrado que esta mutación tiene una bioactividad baja⁵⁴.

- **Defectos del Receptor de TRH (gen *TRHR*)**

Tan solo 2 casos familiares son conocidos con mutaciones de receptor de TRH (gen *TRHR*)^{55, 56}. La herencia es de nuevo autosómica recesiva, habiéndose descrito una heterocigosis compuesta de 2 mutaciones (un stop codon prematuro R17X en un alelo, y en el otro, una delección de 3 aminoácidos - S115_T117del - asociada a otra mutación *missense*, A118T), y la misma mutación *nonsense* (R17X) en homocigosis en otra familia. Los pacientes son negativos al Screening neonatal de HC, y fueron diagnosticados por talla baja al final de la primera década de vida. Los niveles de TSH son detectables y pueden incluso estar en rango normal, pero su actividad es baja, como lo demuestra el hipotiroidismo con T4 libre claramente reducida que presentan. En ambos casos el test de TRH mostró respuesta plana de la TSH y de la prolactina en los probandos, sin embargo, dependiendo de la severidad de cada mutación, un defecto genético monoalélico del gen *TRHR* podría llevar a un fenotipo de difícil diagnóstico, con TSH y T4 libre normales, pero con una respuesta insuficiente de TSH al TRH, y respuesta de prolactina conservada⁵⁵.

- **Defectos del factor (gen *IGSF1*)**

Recientemente se ha identificado un gen nuevo llamado *IGSF1*, que está implicado en el eje gonadal y tiroideo en pacientes con hipotiroidismo central que asociaban en algunos casos macroorquidismo. Este gen de la superfamilia de las inmunoglobulinas se ha propuesto como receptor de membrana implicado en la vía de señalización por activina A. En modelo de ratón con defecto en *Igsf1* se ha observado una disminución de los niveles de TSH en suero y una menor expresión del receptor de TRH, lo que sugiere el papel regulador de *IGSF1* a nivel hipofisario^{57, 58}.

HCC en el contexto de deficiencia hipofisaria combinada

El desarrollo embriológico de la glándula hipofisaria es muy complejo, pues consiste en la generación final de 6 líneas celulares distintas (Figura 1E) a través de la expresión en cascada de distintos factores de transcripción, incluyendo los que serán específicos de cada una de los tipos celulares pituitarios. Estos factores hipofisarios se expresan de forma coordinada en el tiempo y el espacio. Hay factores de expresión temprana como HESX1, LHX3, LHX4, PITX1, PITX2, SOX2 o SOX3 entre otros, que intervienen en la formación inicial de la hipófisis (Figura 1E). No obstante, el desarrollo de los diversos linajes de células de la pituitaria anterior requiere la actividad de varios factores de transcripción que se expresan más tarde y que intervienen en la diferenciación final de las células somatotropas, lactotropas, tiotropas, gonadotropas, corticotropas y melanotropas.

El desarrollo de las células secretoras de TSH requiere la funcionalidad de al menos cuatro factores: HESX1, LHX3, PITX2, PROP1 y POU1F1, que cuando están mutados conducen a hipotiroidismo en familias con deficiencia combinada de hormonas pituitarias (DCHP). Sin embargo, no se han descrito en humanos defectos en otras proteínas como PITX1 o GATA2, que participan en la organogénesis de la hipófisis y de las que sólo se conocen modelos en ratón⁵⁹.

HCC sindrómicos y otros

S. de Axenfeld-Rieger. Mutaciones en determinados factores pueden asociarse con síndromes clínicos, como es el caso de Pitx2, relacionado con el Síndrome Axenfeld-Rieger, una enfermedad autosómica dominante que manifiesta la alteración de órganos cuyo desarrollo está regulado por este factor. Estos pacientes presentan alteraciones óseas dentales, craneofaciales, glaucoma, cardiopatía pero también hipotiroidismo central⁶⁰.

S. de Shapiro. Consiste en la tríada clínica de hipotermia, sudoración y escalofríos en episodios recurrentes, asociados con agenesia de cuerpo caloso. La periodicidad de los episodios de hipotermia varía desde horas a años, y su duración de horas a semanas. Típicamente, también se asocian alteraciones del sistema nervioso central, particularmente hipotalámicas, lo que se asocia a hipotiroidismo central, del que se han descrito tanto terciario como secundario^{61, 62}. La base genética del Síndrome se desconoce en la actualidad.

Pseudohipoparatiroidismo Ia (GNAS). Mutaciones en el gen que codifica la subunidad alfa de la proteína G acoplada al receptor (GNAS) conllevan un fenotipo de hipotiroidismo generalmente primario

pero puede también ser “mixto” entre secundario (hipofisario) y primario debido a que tanto el receptor de TSH (TSHR) localizado en la glándula tiroidea como el TRHR de la célula tirotropa son receptores acoplados a la proteína G alfa. No se conoce el mecanismo que desencadena la predominancia de un fenotipo u otro, si bien, es más frecuente la manifestación de una resistencia a TSH^{63, 64}.

TRAP230. Los defectos hipofisarios pueden ocurrir a nivel transcripcional por mutaciones en factores como TRAP220 (también conocido como Med1), que forma parte del complejo TRAP/SMCC/Mediator complex y actúa como coactivador de la síntesis de la TSHβ. Mutaciones en un factor relacionado de la misma familia, el TRAP230 (MED12) se han asociado a retraso mental e hipotiroidismo⁶⁵. Si bien este hipotiroidismo está poco caracterizado, el fenotipo conocido de hipotiroidismo central del ratón KO para Trap220 (Tabla 1) sugiere fuertemente que el hipotiroidismo humano identificado sea también de tipo central.

CONCLUSIONES

La complejidad de los mecanismos moleculares que regulan el eje hormonal tiroideo en hipotálamo e hipófisis anticipa la diversidad de defectos genéticos que han de ser la causa de hipotiroidismo central, una diversidad que en el momento solamente se vislumbra. Es el HCC una patología que necesita de un alto índice de sospecha en las consultas clínicas, quizás teniendo en cuenta el posible agrupamiento familiar de hipotiroidismos leves, que habrá que diferenciar bien del hipotiroidismo leve primario. Es destacable que los casos de HCC por defectos en el Receptor de TRH consultaron por talla baja. Y que SR Rose encuentra que un porcentaje de niños con talla baja idiopática tiene un hipotiroidismo central aislado⁶⁶.

Ante sospecha de HCC debemos caracterizar en detalle clínicamente a los pacientes, sirviéndonos de los rangos hormonales, pruebas de imagen, el test de TRH y, en casos concretos, el ensayo de bioactividad de la TSH sérica de los pacientes. Ello nos llevará a identificar defectos genéticos en genes conocidos (actualmente muy escurridizos) y en otros por conocer, al investigar con las modernas técnicas genómicas pedigríes familiares con esta patología. Estos genes muy probablemente son responsables de la determinación del “set-point” individual de la secreción de TSH o están implicados en las oscilaciones circadianas de la tiotropina. Mirando hacia el futuro, la medicina regenerativa, que ha demostrado ser capaz de generar in vitro adenohipófisis funcionantes partiendo de células madre hipofisarias^{67, 68}, puede constituir una potencial solución no solo del hipotiroidismo central, sino de los hipopituitarismos en general.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev.* 2001; 81:1097-1142.
2. Chiamolera MI, Wondisford FE. Minireview: Thyrotropin-Releasing Hormone and The Thyroid Hormone Feedback Mechanism. *Endocrinology.* 2009; 150:1091-1096.
3. Perello M, Stuart R, Nillni EA. Prothyrotropin-releasing Hormone Targets Its Processing Products to Different Vesicles of the Secretory Pathway. *J. Biol. Chem.* 2008; 283(29):19936-19947.
4. Paez Espinosa V, Ferrini M, Shen X, Lutfy K, Nillni EA, Friedman TC. Cellular colocalization and coregulation between hypothalamic pro-TRH and prohormone convertases in hypothyroidism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 292:175-186.
5. Sánchez E, Vargas MA, Singru PS, Pascual I, Romero F, Fekete C, Charli JL, Lechan RM. Tanycyte pyroglutamyl peptidase II contributes to regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis through glial-axonal associations in the median eminence. *Endocrinology.* 2009; 150(5):2283-91.
6. Crantz FR, Larsen PR. Rapid thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion and nuclear 3,5,3'-triiodothyronine binding in rat cerebral cortex and cerebellum. *J Clin Invest.* 1980; 65(4):935-8.
7. Galton VA, Schneider MJ, Clark AS, St Germain DL. Life without thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion: studies in mice devoid of the 5'-deiodinases. *Endocrinology.* 2009; 150(6):2957-63.
8. Lechan RM, Fekete C. Infundibular tanycytes as modulators of neuroendocrine function: hypothetical role in the regulation of the thyroid and gonadal axis. *Acta Biomed.* 2007; 78 Suppl 1:84-98.
9. Costa-e-Sousa RH, Hollenberg AN. Minireview: The neural regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Endocrinology.* 2012; 153(9).
10. Hashimoto K, Zanger K, Hollenberg AN, Cohen LE, Radovick S, Wondisford FE. cAMP response element-binding protein-binding protein mediates thyrotropin-releasing hormone signaling on thyrotropin subunit genes. *J Biol Chem.* 2000; 275(43):33365-72.
11. Marvin C, Gershengorn MD. The TRH/TRH Receptor System: A Case Study of Receptor Binding & Signalling. Introduction to Molecular & Cellular Research. *The Endocrine Society,* 1997; 107-112.
12. Hinkle PM, Gehret AU, Jones BW. Desensitization, trafficking, and resensitization of the pituitary thyrotropin-releasing hormone receptor. *Front Neurosci.* 2012; 6:180.
13. Persani L, Borgato S, Romoli R, Asteria C, Pizzocaro A, Beck-Peccoz P. Changes in the degree of sialylation of carbohydrate chains modify the biological properties of circulating thyrotropin isoforms in various physiological and pathological states. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 ; 83(7):2486-92.
14. Gyves PW, Gesundheit N, Thotakura NR, Stannard BS, DeCherney GS, Weintraub BD. Changes in the sialylation and sulfation of secreted thyrotropin in congenital hypothyroidism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; 87(10):3792-6.
15. Brokken LJ, Bakker O, Wiersinga WM, Prummel MF. Functional thyrotropin receptor expression in the pituitary folliculo-stellate cell line TtT/GF. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2005;113(1):13-20.
16. Stewart JK, Clifton DK, Koerker DJ, Rogol AD, Jaffe T, Goodner CJ. Pulsatile release of growth hormone and prolactin from the primate pituitary in vitro. *Endocrinology.* 1985; 116(1):1-5.
17. Brabant G, Ranft U, Ocran K, Hesch RD, von zur Mühlen A. Thyrotropin--an episodically secreted hormone. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1986; 112(3):315-22.
18. Brabant G, Prank K, Ranft U, Schuermeyer T, Wagner TO, Hauser H, Kummer B, Feistner H, Hesch RD, von zur Mühlen A. Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70(2):403-9.
19. Covarrubias L, Redondo JL, Vargas MA, Uribe RM, Méndez M, Joseph-Bravo P, Charli JL. In vitro TRH release from hypothalamus slices varies during the diurnal cycle. *Neurochem Res.* 1994; 19(7):845-50.
20. Samuels MH, Henry P, Luther M, Ridgway EC. Pulsatile TSH secretion during 48-hour continuous TRH infusions. *Thyroid.* 1993; 3(3):201-6.
21. Nakabayashi K, Matsumi H, Bhalla A, Bae J, Mosselman S, Hsu SY, Hsueh AJ. Thyrostimulin, a heterodimer of two new human glycoprotein hormone subunits, activates the thyroid-stimulating hormone receptor. *J Clin Invest.* 2002; 109(11):1445-52.
22. Okada SL, Ellsworth JL, Durnam DM, Haugen HS, Holloway JL, Kelley ML, Lewis KE, Ren H, Sheppard PO, Storey HM, Waggle KS, Wolf AC, Yao LY, Webster PJ. A glycoprotein hormone expressed

in corticotrophs exhibits unique binding properties on thyroid-stimulating hormone receptor. *Mol Endocrinol.* 2006; 20(2):414-25.

23. Ikekubo K, Hino M, Saiki Y, Son C, Iwakura T, Kobayashi H, Ishihara T. Immeasurably low and non-TRH-stimulatable TSH associated with normal I-123 uptake in two goitrous euthyroid patients: possible existence of other thyroid-hormone regulated thyroid stimulators other than TSH. *Endocr J.* 2005; 52(1):61-8.

24. Takeuchi Y, Murata Y, Sadow P, Hayashi Y, Seo H, Xu J, O'Malley BW, Weiss RE, Refetoff S. Steroid receptor coactivator-1 deficiency causes variable alterations in the modulation of T(3)-regulated transcription of genes in vivo. *Endocrinology.* 2002; 143(4):1346-52.

25. Sarkar S, Lechan RM. Central administration of neuropeptide Y reduces alpha-melanocyte-stimulating hormone-induced cyclic adenosine 5'-monophosphate response element binding protein (CREB) phosphorylation in pro-thyrotropin-releasing hormone neurons and increases CREB phosphorylation in corticotropin-releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology.* 2003; 144(1):281-91.

26. Chiappini F, Ramadoss P, Vella KR, Cunha LL, Ye FD, Stuart RC, Nillni EA, Hollenberg AN. Family members CREB and CREM control thyrotropin-releasing hormone (TRH) expression in the hypothalamus. *Mol Cell Endocrinol.* 2013; 365(1):84-94.

27. Costa-e-Sousa RH, Astapova I, Ye F, Wondisford FE, Hollenberg AN. The thyroid axis is regulated by NCoR1 via its actions in the pituitary. *Endocrinology.* 2012; 153(10):5049-57.

28. Chuang CC, Tan SK, Tai LK, Hsin JP, Wang FF. Evidence for the involvement of protein kinase C in the inhibition of prolactin gene expression by transforming growth factor-beta2. *Mol Pharmacol.* 1998; 53(6):1054-61.

29. Jacobson EM, Li P, Leon-del-Rio A, Rosenfeld MG, Aggarwal AK. Structure of Pit-1 POU domain bound to DNA as a dimer: unexpected arrangement and flexibility. *Genes Dev.* 1997; 11(2):198-212.

30. Inoue H, Mukai T, Sakamoto Y, Kimura C, Kan-gawa N, Itakura M, Ogata T, Ito Y, Fujieda K. Identification of a novel mutation in the exon 2 splice donor site of the POU1F1/PIT-1 gene in Japanese identical twins with mild combined pituitary hormone deficiency. *Clin Endocrinol.* 2012; 76(1):78-87.

31. Pulichino AM, Vallette-Kasic S, Tsai JP, Couture C, Gauthier Y, Drouin J. Tpit determines alternate

fates during pituitary cell differentiation. *Genes Dev.* 2003; 17(6):738-47.

32. Castinetti F, Brinkmeier ML, Gordon DF, Vella KR, Kerr JM, Mortensen AH, Hollenberg A, Brue T, Ridgway EC, Camper SA. PITX2 AND PITX1 regulate thyrotroph function and response to hypothyroidism. *Mol Endocrinol.* 2011; 25(11):1950-1960.

33. Nakajima Y, Yamada M, Taguchi R, Shibusawa N, Ozawa A, Tomaru T, Hashimoto K, Saito T, Tsuchiya T, Okada S, Satoh T, Mori M. NR4A1 (Nur77) mediates thyrotropin-releasing hormone-induced stimulation of transcription of the thyrotropin β gene: analysis of TRH knockout mice. *PLoS One.* 2012; 7(7).

34. Ito M, Roeder RG. The TRAP/SMCC/Mediator complex and thyroid hormone receptor function. *Trends Endocrinol Metab.* 2001; 12(3):127-34.

35. Yamada M, Saga Y, Shibusawa N, Hirato J, Murakami M, Iwasaki T, Hashimoto K, Satoh T, Wakabayashi K, Taketo MM, Mori M. Tertiary hypothyroidism and hyperglycemia in mice with targeted disruption of the thyrotropin-releasing hormone gene *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94(20):10862-10867.

36. Cyr NE, Stuart RC, Zhu X, Steiner DF, Nillni EA. Biosynthesis of pro-TRH derived peptides in prohormone convertase 1 and 2 knockout mice. *Peptides.* 2012; 35:42-8.

37. Stahl JH, Kendall SK, Brinkmeier ML, Greco TL, Watkins-Chow DE, Campos-Barros A, Lloyd RV, Camper SA. Thyroid hormone is essential for pituitary somatotropes and lactotropes. *Endocrinology.* 1999; 140(4):1884-92.

38. Ito M, Yuan CX, Okano HJ, Darnell RB, Roeder RG. Involvement of the TRAP220 component of the TRAP/SMCC coactivator complex in embryonic development and thyroid hormone action. *Mol Cell.* 2000; 5(4):683-93.

39. Charles MA, Saunders TL, Wood WM, Owens K, Parlow AF, Camper SA, Ridgway EC, Gordon DF. Pituitary-specific Gata2 knockout: effects on gonadotrope and thyrotrope function. *Mol Endocrinol.* 2006; 20(6):1366-77.

40. Bernard DJ, Burns KH, Haupt B, Matzuk MM, Woodruff TK. Normal reproductive function in InhBP/p120-deficient mice. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(14):4882-91.

41. Scully KM, Rosenfeld MG. Pituitary development: regulatory codes in mammalian organogenesis. *Science.* 2002; 295(5563):2231-5.

42. Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ,

- Brickman JM, Gupta R, Mårtensson IL, Toresson H, Fox M, Wales JK, Hindmarsh PC, Krauss S, Beddington RS, Robinson IC. Mutations in the homeobox gene *HESX1/Hesx1* associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nat Genet.* 1998; 19(2):125-33.
43. Berry MJ, Grieco D, Taylor BA, Maia AL, Kieffer JD, Beamer W, Glover E, Poland A, Larsen PR. Physiological and genetic analyses of inbred mouse strains with a type I iodothyronine 5' deiodinase deficiency. *J Clin Invest.* 1993; 92(3):1517-28.
44. Schneider MJ, Fiering SN, Pallud SE, Parlow AF, St Germain DL, Galton VA. Targeted disruption of the type 2 selenodeiodinase gene (*DIO2*) results in a phenotype of pituitary resistance to T4. *Mol Endocrinol.* 2001; 15(12):2137-48.
45. Hernandez A, Quignodon L, Martinez ME, Flamant F, St Germain DL. Type 3 deiodinase deficiency causes spatial and temporal alterations in brain T3 signaling that are dissociated from serum thyroid hormone levels. *Endocrinology.* 2010; 151(11):5550-8.
46. Brent GA. Tissue-specific actions of thyroid hormone: insights from animal models. *Rev Endocr Metab Disord.* 2000; 1(1-2):27-33.
47. van Tijn DA, de Vijlder JJ, Verbeeten B Jr, Verkerk PH, Vulmsa T. Neonatal detection of congenital hypothyroidism of central origin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(6):3350-9.
48. Adachi M, Soneda A, Asakura Y, Muroya K, Yamagami Y, Hirahara F. Mass screening of newborns for congenital hypothyroidism of central origin by free thyroxine measurement of blood samples on filter paper. *Eur J Endocrinol.* 2012; 166(5):829-38.
49. Persani L. Clinical review: Central hypothyroidism: pathogenic, diagnostic, and therapeutic challenges. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(9):3068-78.
50. Mehta A, Hindmarsh PC, Stanhope RG, Brain CE, Preece MA, Dattani MT. Is the thyrotropin-releasing hormone test necessary in the diagnosis of central hypothyroidism in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(12):5696-703.
51. Van Tijn DA, de Vijlder JJ, Vulmsa T. Role of the Thyrotropin-Releasing Hormone Stimulation Test in Diagnosis of Congenital Central Hypothyroidism in Infants. *eJ Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(2):410-419.
52. Partsch CJ, Riepe FG, Krone N, Sippell WG, Pohlenz J. Initially elevated TSH and congenital central hypothyroidism due to a homozygous mutation of the TSH beta subunit gene: case report and review of the literature. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes.* 2006; 114(5):227-234.
53. Baquedano MS, Ciaccio M, Dujovne N, et al. Two novel mutations of the TSH- β subunit gene underlying congenital central hypothyroidism undetectable in neonatal TSH screening. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2010; 95(9):E98-E103.
54. Medeiros-Neto G, Herodotou DT, Rajan S, Kommareddi S, de Lacerda L, Sandrini R, Boguszewski MC, Hollenberg AN, Radovick S, Wondisford FE. A circulating, biologically inactive thyrotropin caused by a mutation in the beta subunit gene. *J Clin Invest.* 1996; 97(5):1250-6.
55. Collu R, Tang J, Castagné J, Lagacé G, Masson N, Huot C, Deal C, Delvin E, Faccenda E, Eidne KA, Van Vliet G. A novel mechanism for isolated central hypothyroidism: inactivating mutations in the thyrotropin-releasing hormone receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(5):1561-5.
56. Bonomi M, Busnelli M, Beck-Peccoz P, Costanzo D, Antonica F, Dolci C, Pilotta A, Buzi F, Persani L. A family with complete resistance to thyrotropin-releasing hormone. *N Engl J Med.* 2009; 360(7):731-4.
57. Sun Y, Bak B, Schoenmakers N, van Trotsenburg AS, Oostdijk W, Voshol P et al. Loss-of-function mutations in *IGSF1* cause an X-linked syndrome of central hypothyroidism and testicular enlargement. *Nat Genet.* 2012; 44(12):1375-81.
58. Tajima T, Nakamura A, Ishizu K. A novel mutation of *IGSF1* in a Japanese patient of congenital central hypothyroidism without macroorchidism [Rapid Communication]. *Endocr J.* 2013; 60(2):245-9.
59. Moreno JC, de Vijlder JJ, Vulmsa T, Ris-Stalpers C. Genetic basis of hypothyroidism: recent advances, gaps and strategies for future research. *Trends Endocrinol Metab.* 2003; 14(7):318-26.
60. de la Houssaye G, Bieche I, Roche O, Vieira V, Laurendeau I, Arbogast L, Zeghidi H, Rapp P, Halimi P, Vidaud M, Dufier JL, Menasche M, Abitbol M. Identification of the first intragenic deletion of the *PITX2* gene causing an Axenfeld-Rieger Syndrome: case report. *BMC Med Genet.* 7:82, 2006.
61. Arkader R, Takeuchi CA. Shapiro syndrome with hypothalamic hypothyroidism. *Arq Neuropsiquiatr.* 66(2B):418-9, 2008.
62. Gruñeiro de Papendieck L, Iorcansky S, Rivalola MA, Heinrich JJ, Bergadá C. Patterns of TSH

response to TRH in children with hypopituitarism. *J Pediatr*. 100(3):387-92, 1982.

63. Lubell T, Garzon M, Anyane Yeboa K, Shah B. A Novel Mutation Causing Pseudohypoparathyroidism 1A with Congenital Hypothyroidism and Osteoma Cutis. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 1(5):244-247, 2009.

64. Balavoine AS, Ladsous M, Velayoudom FL, Vlaeminck V, Cardot-Bauters C, d'Herbomez M, Wemeau JL. Hypothyroidism in patients with pseudohypoparathyroidism type Ia: clinical evidence of resistance to TSH and TRH. *Eur J Endocrinol*, 159(4):431-437, 2008.

65. Philibert RA, King BH, Winfield S, Cook EH, Lee YH, Stubblefield B, Damschroder-Williams P, Dea C,

Palotie A, Tengstrom C, Martin BM, Ginns EI. Association of an X-chromosome dodecamer insertional variant allele with mental retardation. *Mol Psychiatry*. 3(4):303-9, 1998.

66. Rose SR. Isolated central hypothyroidism in short stature. *Pediatr Res*. 1995;38(6):967-73.

67. Castinetti F, Davis SW, Brue T, Camper SA. Pituitary stem cell update and potential implications for treating hypopituitarism. *Endocr Rev*. 2011;32(4):453-71.

68. Suga H, Kadoshima T, Minaguchi M, Ohgushi M, Soen M, Nakano T, Takata N, Wataya T, Muguruma K, Miyoshi H, Yonemura S, Oiso Y, Sasai Y. Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture. *Nature*. 2011;480(7375):57-62.