

29  
2ej<sup>o</sup>



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

## “Mecanismo de Acción de la Triyodotiro- nina (T<sub>3</sub>) y su Relación con el Cancer”.

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
**P R E S E N T A**  
JUAN MANUEL LUJAN SALAZAR

DIRECTOR DE TESIS:  
Q.F.B. MAI ESTHER REVUELTA MIRANDA

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodriguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:  
"Mecanismo de Acción de la Triyodotironina (T<sub>3</sub>) y su Relación con el Cancer".

que presenta el pasante Juan Manuel Luján Salazar  
con número de cuenta: 8553964-4 para obtener el TITULO de:  
Químico Farmacéutico Biólogo.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 14 de Mayo de 1990

PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Ramón Cedejas Ramírez</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Miranda</u>	
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M. en C. Francisco López Mejía</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Martha Patricia Zúñiga Cruz</u>	

## AGRADECIMIENTOS.

A Dios:

Por darme vida, salud y una gran familia.

A mis Padres:

Enrique Luján López y Mar. de los Angeles Salazar de L., por su comprensión y apoyo, con cariño y respeto.

A mi Esposa:

Martha Cecilia López Cortés, por su paciencia, apoyo y estímulo para seguir siempre adelante, así como Karen y Jessica que son dos vidas que Dios nos dió para su cuidado.

A mis Hermanos:

Arturo, Miguel Angel, Luis Armando, Jorge Alejandro, Fernando, Martha Angélica, Ricardo, José de Jesús, Patricia, Marco Antonio, María Elena y especialmente a Rubén y Enrique, por el apoyo moral y económico durante la carrera.

A mi abuelita:

Por su apoyo durante la carrera.

A mi asesor de Tesis:

D.F.B. María Esther Revuelta Miranda, por su paciencia, gran apoyo en la elaboración de la presente tesis, y también por su carisma y gusto para dar sus clases.

A mis asesores de Tesis:

D.F.B. Ramón Cendejas Ramírez, D.F.B. Ma. Eugenia Posada Galarza, M. en C. Francisco López Mejía, D.F.B. Martha Patricia Zúñiga Cruz, por su paciencia y apoyo en la tesis.

A la familia Morales Jiménez.

A Mary, Hans, Luis, Tito y Abraham.

A mis excompañeros:

Lic. Edu. Arturo, Richard, José Juan, Daniel y los integrantes del Cubo. Así como a las personas no mencionadas que me apoyaron.

A los profesores de la FESQ.

Los cuales hacen posible la formación de Profesionistas de gran nivel.

## INDICE

1.- Prólogo .....	4
2.- Objetivo .....	6
3.- Introducción .....	7
4.- Generalidades .....	12
4.1. Historia .....	12
4.2. Tiroides .....	14
4.2.1. Regulación .....	15
4.3. Biosíntesis de T3 y T4 .....	18
4.3.1. Captación del Yoduro .....	19
4.3.2. Yodinación .....	21
4.3.2.1. Síntesis MIT .....	22
4.3.2.2. Síntesis DIT .....	23
4.3.2.3. Reacción de Acoplamiento .....	24
4.3.2.4. Síntesis de T4 .....	24
4.3.2.5. Síntesis de T3 .....	26
4.3.3. Captación del coloide y desintegración de tiroglobulina...	27
4.4. Efecto de T3 sobre células blanco .....	29
5.- Receptores de T3 .....	33
5.1. Estructura molecular de los receptores de hormona tiroidea .....	33
5.2. Múltiples isoformas de receptores de T3 (TR) .....	36
5.2.1. Isoformas de TR beta .....	39
5.2.2. Isoformas de TR alfa y productos genéticos .....	39
5.3. Regulación de la expresión genética de TR .....	40
5.3.1. TR beta2 .....	40
5.3.2. Otras isoformas de TR .....	41
5.4. Propiedades de las isoformas de TR .....	43

5.4.1. Características generales y estructura de dominio .....	43
5.4.2. Enlace a DNA .....	45
5.5. Homo y Heterodimerización .....	46
5.6. Regulación Transcripcional por TRs .....	48
5.6.1. TR no ligado .....	48
5.6.2. TR ligado .....	49
5.6.3. TR alfa2 .....	51
6.- Mecanismo de Acción de T3 .....	52
7.- Relación de T3 con los oncogenes o con el cáncer .....	56
7.1. C-erb y enfermedades relacionadas .....	57
7.2. C-erb en cáncer de seno .....	57
7.3. C-erb en tumores tiroideos .....	58
7.4. C-erb en tumores paratiroides .....	59
7.5. C-erb en displasias hepáticas .....	59
7.6. C-erb en cáncer de vejiga .....	60
7.7. C-erb en adenocarcinoma de esófago .....	60
7.8. C-erb en carcinoma cérvico uterino .....	61
7.9. C-erb en tumores malignos del SNC .....	61
8.- Discusión .....	62
9.- Conclusiones .....	64
10.- Glosario .....	65
11.- Referencias .....	66

## 1.- PROLOGO

En la actualidad el conocimiento del universo es mucho mayor que hace 20 años, día a día avanza a pasos agigantados, sin embargo cada día aparecen nuevas incógnitas con cada descubrimiento que se hace.

Otras áreas de la ciencia, Química, Biología y Medicina también avanzan a grandes pasos. La lepra, la tuberculosis y otras enfermedades ya no son mortales, no obstante el Sida y el Cáncer entre otras enfermedades mantienen ocupados gran parte de los esfuerzos de investigación.

Para la comprensión cabal de la etiopatogenia que se da en las enfermedades o en los procesos neoplásicos es fundamental entrar a fondo en los procesos bioquímicos, de mediadores, receptores y procesos involucrados.

Hasta ahora se han tenido avances significativos con respecto al cáncer, que ha permitido detenerlo y evitar que sea mortal cuando se detecta en etapas tempranas.

Ahora es comprendido que las hormonas tiroideas juegan un papel fundamental en el funcionamiento y metabolismo celular prácticamente a todos niveles.

La similitud del producto oncogénico V-erb A al receptor glucocorticoide últimamente marca la identificación de su homólogo celular como el receptor de la hormona tiroidea. Ahora se reconoce la existencia de una superfamilia de receptores, incluyendo aquellos para hormonas esteroides, ácido retinoico y vitamina D3, también 2 subtipos de receptores de la hormona tiroidea, llamados alfa y beta. La comparación del análisis mutacional y estructural de estos receptores hormonales identifican dominios responsables para el enlace hormonal a DNA y trans-activación de la expresión génica. A partir de los 90's se comienza a asociar a un receptor de la hormona tiroidea con algunos tipos de cáncer. Es aquí donde se marca la interrogante ¿Cuál es la relación de los

receptores de la hormona tiroidea con oncogenes y en qué tipo de cáncer están relacionados?

En la presente tesis se hace una recopilación sobre el mecanismo de acción de T<sub>3</sub>, todo lo relacionado con receptores de la hormona tiroidea y su afinidad con los receptores de la superfamilia a la que pertenece, las diferencias entre ellos y como es que en algunos casos receptores de la hormona tiroidea tienen relación con algunos tipos de cáncer y cuál es ésta relación.

## 2.- OBJETIVOS

### Objetivos Generales:

Conocer los procesos celulares a través de los cuales la triyodotironina regula el metabolismo en sus células blanco fundamentalmente a nivel de receptores.

Conocer la relación de los receptores proteicos para T3 con los oncogenes.

### Objetivos Particulares:

- Proponer mecanismo de acción de T3 en sus células blanco.
- Establecer: ¿qué es?, ¿qué propiedades tiene? y ¿cuáles son los receptores de Triyodotironina?

### 3.- INTRODUCCION.

La hormona tiroidea regula los procesos metabólicos en la mayoría de los órganos y es esencial para el desarrollo normal del sistema nervioso. Esta hormona muestra estabilidad en cuanto a su concentración regular. Se sintetiza en la glándula endócrina más grande del cuerpo, se almacena en grandes cantidades dentro de ella, se segrega como una prohormona llamada tiroxina (T4) la cual es poco activa y se une fuertemente a las proteínas plasmáticas, y se convierte a su forma más activa en los tejidos periféricos. (139) La palabra "endocrino", que significa "secretar directamente en", designa bien estas glándulas, pues secretan hormonas directamente en la sangre. El nombre tiroides significa "escudo oblongo" (Warton 1659). (2).

La tiroxina (T4) es el principal producto de secreción de la glándula tiroides, y consta de dos anillos fenilo unidos por un puente éter con una cadena lateral alanina del anillo interno. Contiene 4 átomos de yodo adosados a los carbonos 3 y 5 del anillo interno y 3' y 5' del anillo externo. La 3,5,3'-Triyodotironina o T3 es la forma activa de la hormona tiroidea y deriva principalmente en la extracción periférica de un átomo de yodo del anillo externo. La remoción del yodo del carbono 5 del anillo interno origina la T3 invertida, un metabolito inactivo.(52)

Las hormonas tiroideas aceleran la síntesis de proteínas y aumentan además el consumo de oxígeno por las células blanco. La tiroxina provoca la hinchazón de las mitocondrias in vivo e in vitro, activa sus enzimas oxidativas y acelera el ciclo del ácido tricarbóxico. La yodotironina se uniria a receptores intracelulares situados en el núcleo de las células blanco, que regularian la biosíntesis de ARN-dependiente del ADN. El ARNm inducido dictaria la síntesis de proteínas que mediarían la mayor parte de las acciones de las hormonas tiroideas. El aumento del transporte activo de Na<sup>+</sup> relacionado con una o más

de estas proteínas específicas a través de la membrana celular, aumentaría la hidrólisis de ATP, con el consiguiente aumento de la fosforilación oxidativa mitocondrial, produciendo por este mecanismo la "Termogénesis tiroidea". Otras o las mismas proteínas inducidas estarían relacionadas con otras acciones como síntesis proteica, catabolismo proteico, síntesis de lípidos, contracción muscular, etc. La potencialización de las acciones de las catecolaminas explicaría muchas de las acciones nerviosas y cardiovasculares de las hormonas tiroideas. (2,8). T3 se une con una afinidad 10 veces mayor que T4 a los receptores celulares por lo que solo T3 es activa. Existe una elevada correlación entre la afinidad de fijación y la capacidad de provocar una respuesta biológica. Las hormonas tiroideas se fijan en sitios de afinidad baja en el citoplasma, pero aparentemente esta no es la misma proteína que el receptor nuclear. La fijación citoplasmática puede servir para conservar a las hormonas tiroideas en "la vecindad". También se ha descrito la unión de T3 a la membrana plasmática, siendo incierto el papel de esta fijación en el transporte de la hormona. En cerebro, sistema reticuloendotelial y las gónadas no se ha observado la función metabólica general de las hormonas tiroideas, que es la de incrementar el consumo de oxígeno. Las hormonas tiroideas potencian la función celular de la bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$ , al incrementar el número de unidades de bombeo. Puesto que todas las células tienen esta bomba y virtualmente todas responden a las hormonas tiroideas, esta potencialización en la utilización del ATP y el incremento relacionado al consumo de oxígeno vía la fosforilación oxidativa, pudiera ser el mecanismo básico de acción de la hormona tiroidea.(7)

Después de administrar hormonas tiroideas, un centenar, por lo menos y quizá muchas más enzimas intracelulares aumentan en cantidad. También aumentan considerablemente las enzimas oxidativas y los elementos del sistema de

transporte de electrones, ambos normalmente existentes en las mitocondrias. En las mitocondrias la función principal de la tiroxina podría consistir simplemente en elevar el número y la actividad de las mitocondrias, las cuales a su vez, acelerarán la producción de ATP para suministrar energía a las funciones celulares. El aumento de número y actividad de las mitocondrias también podría ser el resultado de la mayor actividad y no de su causa.

No se ha aclarado con precisión el mecanismo metabólico específico que causa los efectos que ocurren en las células de todo el organismo por influencia de las hormonas tiroideas. En la actualidad, la función básica más probable de las hormonas tiroideas es su capacidad para activar el proceso de transcripción de DNA en el núcleo celular, con la consiguiente formación de muchas nuevas proteínas celulares.(7)

Efectos de la hormona tiroidea en mecanismos específicos del organismo:

- Metabolismo de Carbohidratos
- Efectos sobre las grasas de la sangre y del hígado.
- Metabolismo de las proteínas.
- Modificación del metabolismo basal.
- Efecto sobre el peso corporal.
- Efecto sobre el sistema cardiovascular.
- Volumen sanguíneo.
- Presión arterial.
- Respiración.
- Tubo digestivo.
- Sistema Nervioso Central.
- Función Muscular.
- Sobre el sueño.
- En otras glándulas endócrinas.

- En la función sexual.
- Efectos consecutivos a la calorigenesis.
- Con las catecolaminas.
- Sobre el crecimiento y desarrollo. (15,47).

También se ha estudiado la regulación en la síntesis de hem de rata en hígado por la hormona tiroidea, dado que estas influyen en el contenido hepático del citocromo P450 y las oxidaciones de fármacos dependientes de su hemoproteína. Estos efectos son aparentemente dependientes del sexo y pueden ser modulados por esteroides sexuales. Se reporta recientemente que T3 puede inducir a la hemoxigenasa, la enzima limitante de velocidad de degradación de hem a pigmentos biliares en el hígado de ratas tiroidectomizadas. Los resultados indican que la síntesis hepática del hem, al igual que su degradación pueden ser influenciadas por el estatus tiroideo, y puede ser un mecanismo importante humano que regule la síntesis de hem-porfirina en este órgano.(121)

El receptor para la hormona tiroidea puede en ausencia de ligando suprimir la actividad o en respuesta al promotor. La adición de hormona tiroidea, de cualquier forma resulta en la estimulación de expresión. El derivado oncogénico de receptor de la hormona tiroidea V-erb-A actúa como un represor constitutivo y siendo coexpresado con el receptor, se bloquea su activación por la hormona tiroidea. Este V-erb-A puede ser el primer ejemplo de un oncogene dominante negativo al impedir que se una la hormona tiroidea al receptor. Varios experimentos han demostrado que hay dos oncogenes que pueden tener un efecto sinérgico en la transformación celular, y uno de ellos es V-erb-A. Las fases genéticas del cáncer han permitido identificar un grupo de genes cuyos productos contribuyen directamente con el crecimiento, diferenciación y desarrollo celular. (66)

Varias observaciones recientes, tal como la identificación de la homología celular del oncogene V-erb-A, con el receptor de la hormona tiroidea, implican tener un importante papel en los mecanismos que controlan la transcripción. El oncogene V-erb-A obstruye la diferenciación de células eritrocíticas y cambios requeridos durante el crecimiento de fibroblastos y eritroblastos. Las mutaciones en la proteína codificada por el oncogene V-erb-A están separadas de la afinidad por la hormona tiroidea, pero esto no afecta la habilidad del DNA de asociarse al receptor. (112)

Por otra parte, en el oncogen V-erb-A y C-erb-A sus proteínas poseen propiedades bioquímicas semejantes o similares a los receptores nucleares de T3. (113) Esta última consideración constituye el punto o centro de estudio del presente trabajo.

#### 4.- GENERALIDADES (TIROIDES)

##### 4.1) HISTORIA

La historia perteneciente a la tiroides ha sido admirablemente resumida por Rolleston (109) y cuidadosamente detallada por Sattler (114).

Galeno en su "De Voce" describe algunas glándulas de secreción adyacente a la parte de la anatomía de la laringe llamada cartilago tiroideo debido a la forma de escudo de su estructura. Eustachus llamó a la glándula adyacente glándula laríngea. (25) Wharton en 1656 la llamó "glándula tiroidea", por su proximidad anatómica al cartilago tiroideo y no por su forma. Thompson estableció en 1700 de hecho que es una glándula sencilla, que el broncocele es una enfermedad de la tiroides, que los tumores no sólo ocurren en la tiroides, sino también en el broncocele. (127).

El papel de la glándula en el cuerpo fue sujeto de una especulación interesante, Wharton sugirió que la glándula estaba alrededor de la laringe para embellecer los espacios vacantes cerca de ella. Cowper (20) decía que la tiroides, como el timo, era una glándula linfática de la parte superior del cuerpo; mientras Vercelloni (135) argüía que "la tiroides es una bolsa de gusanos" o sus huevos. Más tarde en 1825 (101) y en 1884 (84) la glándula fue propuesta como una "desviación vascular" amortiguando al cerebro contra un incremento repentino en el flujo sanguíneo.

La relación entre la tiroides y varias de las funciones corporales fue estudiado experimentalmente por tiroidectomía en 1827 (19) y el concepto de una función interna secretora fue formulada por King 9 años más tarde (65). Porque la paratiroides no fue reconocida hasta que Gley (40) la redescubrió en 1891, generalmente la muerte seguía a las tiroidectomías. Reverdins (106) y Kocher (67) en 1883 se enteraron de la similitud entre el mixedema y el cuadro

clínico que se desarrollaba después de la remoción de la tiroides. Semon (117) y Horsley (54), fueron responsables del reconocimiento del hecho de que la pérdida de la tiroides causa desordenes espontáneos y operativos.

No fue sino hasta 1896 que Vasale y Generali (134) separaron la entidad de mixedema siguiendo la tiroidectomía. La identificación final incontestable del papel funcional de la paratiroides aparte de la tiroides vino en 1898, con la remoción de la paratiroides sola y la producción de tétanos (138) y en 1909 con la demostración de hipocalcemia después de la paratiroidectomía.(83).

La asociación de iodo con el trabajo de la tiroides fue hecho en 1896 por Baumann(3) quien descubrió una elevada concentración de este elemento dentro de la glándula. El trabajo de Oswald(99) con tiroglobulina da una base firme a la relación entre el yodo y la tiroides. En 1900, Gley y Bourcet (41) identificaron la presencia de yodo orgánico en plasma combinado con proteínas séricas. Con la cristalización de Kendall de L-tiroxina (tetrayodotironina) proveniente de hidrólisis alcalina de tejido tiroideo en 1915, (63) y la elucidación de la estructura química de la tiroxina por Harington (49) y Barger (50) en 1926 y 1927, la naturaleza de la hormona tiroidea fue al parecer establecida.

Observaciones posteriores por Gross y Pitt-Rivers (50) reabrieron la cuestión, en sus trabajos encontraron un componente con solamente 3 átomos de yodo, triyodotironina (T3), en glándula y en plasma. Este componente demostró ser fisiológicamente más potente y más rápido en su punto de acción que T4 con 4 átomos de yodo y fue clínicamente efectivo en mixedema. Estos trabajos especularon que T4 es la forma en la cual la hormona tiroidea es secretada, de la glándula mientras que T3 es la forma que es activa en los tejidos. Monodeiodinación o conversión de T4 a T3 ha sido ahora revelado que ocurre en los tejidos periféricos, existiendo en circulación T3, rT3 y T4. (17,21,35,92).

#### 4.2) TIROIDES

La tiroides es considerada una glándula de secreción interna o endócrina, carece de conducto excretor y vierte por ello sus productos específicos (hormonas) directamente a la sangre, todos los vertebrados la poseen (desde peces a mamíferos) (64). Está localizada en la parte inferior del cuello anterior respecto de la tráquea y entre los músculos infrahioideos, fascia cervical y la piel (33,98,103,118,139).

Consta de dos lóbulos simétricos que están adheridos a los lados de la tráquea a la altura de la laringe entre ellos se ubica una porción denominada istmo a nivel de la línea media, es por esto que se le asemeja a una mariposa o H y es de color café rojizo. En ocasiones existe un lóbulo piramidal que se origina en el istmo, enfrente de la laringe (139). La glándula envuelve herméticamente las superficies anterior y lateral de la tráquea y laringe, y el istmo cruza la tráquea justamente por debajo del cartilago cricoide (6,33,82).

En un humano adulto oscila en un rango de variación de pesos reportado de 20-30g, y es la glándula endócrina más grande del cuerpo (139,47).

Está muy vascularizada y tiene una de las fases más altas de flujo sanguíneo por gramo de tejido entre los órganos del cuerpo. Las venas tiroideas drenan en la yugular interna (33).

Su inervación es de tipo autonómico: La terminación nerviosa simpática por medio del ganglio cervical superior y la parasimpática proviene del nervio vago (47).

Histológicamente la tiroides contiene diminutas vesículas cerradas llamadas acini o folículos, considerados la unidad funcional, miden aproximadamente 100-300 micras de diámetro y están revestidas por células epiteliales. La pared de cada folículo consta de células tiroideas, las cuales

son cuboides y más altas a medida que aumenta su actividad metabólica y planas cuando son inactivas (32).

Los folículos pequeños, presentan vacuolas dentro de un coloide poco abundante, los cuales están limitados por un epitelio cilíndrico que son característicos de una gran actividad glandular; el interior del folículo se halla lleno de coloide: que es un material proteico que contiene principalmente Tiroglobulina. Alrededor de las células foliculares o de soporte se encuentran las llamadas para-foliculares o células "C" (de origen neuroectodérmico), que producen tirocalcitonina (hormona que provoca el depósito de calcio) (9,47,82, 98,139).

Las células de soporte tiroideo (foliculares) producen hormonas: TRIYODO TIRONINA y TETRAYODO TIRONINA.

Ambas hormonas derivan de un aminoácido: tirosina, siendo las hormonas causantes de las funciones más importantes de la glándula tiroidea como es: (98,33)..

- 1.- Regular el metabolismo basal
- 2.- Estimular el consumo de oxígeno de la mayoría de las células del organismo
- 3.- Necesaria para el crecimiento y maduración normales.

#### 4.2.1. Regulación de la actividad de la glándula tiroidea.

La actividad tiroidea está bajo control maestro de la adenohipófisis y ésta a su vez, por el hipotálamo.

Es decir, la actividad tiroidea está regulada hormonalmente por la hipófisis anterior a través de la hormona TSH (hormona estimulante de la tiroidea); la cual es drenada y transportada por sangre hasta los receptores de

membrana de la célula folicular para provocar la respuesta tiroidea.

TSH es el principal regulador de la función tiroidea (24). El control a nivel del sistema nervioso central se ejerce por vía de la neurohormona hipotalámica liberadora de tirotrófina (TRH), la cual se une a receptores superficiales celulares específicos (receptores de membrana proteicos), sobre los tirotrofos hipofisarios para estimular la síntesis y secreción de TSH.

La hormona estimulante de la tiroides es una glucoproteína que consta de 2 subunidades alfa y beta, con la especificidad biológica en la subunidad beta (Pierce y Parsons 1981), posee una vida media de 60 minutos y es degradada en su mayor parte por el riñón y en menor proporción por el hígado (55,60), tiene un peso molecular de 28,300 D., contiene 211 residuos de aminoácidos, mas hexosas, hexosaminas y ac. siálico (33,62,98,118).

Esta hormona aumenta la producción de T3 y T4, a nivel de la glándula tiroides, las que ejercen retroalimentación negativa a nivel de los tirotrofos hipofisarios (Vale y Cols. 1968).

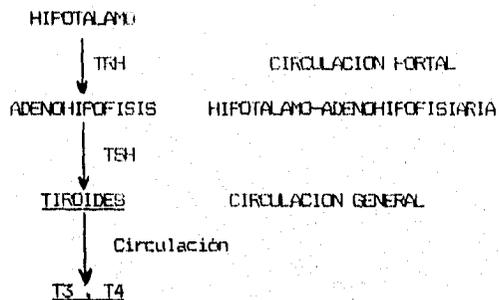


FIG. 1 Esquema de relación hipotálamo-adenohipofisario-tiroidea.

Es decir, T3 y T4 ejercen control negativo y positivo sobre la secreción de TSH, disminuyendo o aumentando la secreción de ésta, modulándose la secreción de T3 y T4. Si T3 y T4 disminuyen en plasma se ejerce sobre adenohipófisis un control positivo para aumentar la secreción de TSH y posteriormente disminuyen los niveles de T3 y T4 circulantes. La hipófisis contiene una 5 desyodasa inusualmente activa que convierte T4 en T3, de tal forma que T4 y T3 actúan como inhibidores retroalimentatorios importantes en la secreción de TSH (6,9,24,33). TSH actúa vía ANFc y la ciclohexamida lo inhibe, los receptores de TSH demuestran que la expresión genética ocurre al menos en parte por la regulación de la expresión de receptores. (142). TSH a su vez estimula su secreción por el factor hipotalámico TRH (108). TRH es la primera hormona hipotalámica descubierta por Schally y Guillemin en 1969. Es un tri péptido neutro consta de ácido piroglutámico, histidina y prolinamida (L-2 pirrolidin, 5-L histidin, L-prolina). (82).

TRH es drenada a adenohipófisis por la circulación portal-hipotalámico - adenohipofisiaria, se degrada fácilmente en sangre (60) y su función es regular la liberación de TSH. Se fija a receptores específicos de membrana y activan a la adenilato ciclasa (102).

Un efecto inhibitorio de la hormona tiroidea es la reducción de los receptores a la TRH en la adenohipófisis, lo que provoca una disminución de la efectividad biológica de una concentración dada de TRH (7,9), repercutiendo ésto en una reducción de la síntesis de TSH y ésta a su vez de T3 y T4.

Las cuantificaciones de TSH, T3 y T4 en plasma proveen las bases para realizar un diagnóstico preciso de muchas enfermedades tiroideas (1). TSH actúa uniéndose o reconociéndose en receptores celulares de superficie de alta afinidad, ubicados en la membrana de las células tiroideas, activando adenilato ciclasa y aumentando la concentración celular de ANFc. Este receptor está

constituido por una glucoproteína fija a un gangliósido (10,24). Como respuesta a TSH, se aumenta por tanto toda la biosíntesis hormonal en tiroides, incluyendo: (7,9,24,33,98)

- a) TRANSPORTE DE YODO
- b) PROTEOLISIS DE TIROGLOBULINA
- c) ORGANIFICACION
- d) ACOPLAMIENTO
- e) ENDOCITOSIS.

1.- Síntesis de proteínas como: Bomba de I<sup>-</sup>, tiroglobulina, peroxidasa, proteasas y desyodasas.

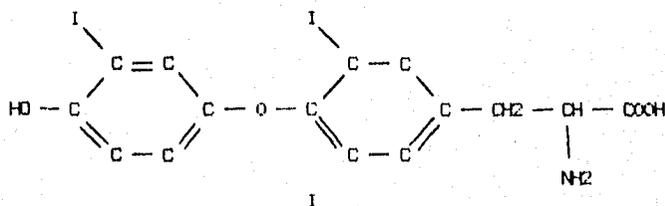
2.- Estas enzimas o proteínas intervienen en:

- a) Captación del Yoduro
- b) Yodinación
- c) Reacción de acoplamiento
- d) Síntesis de Tiroxina
- e) Síntesis de T3
- f) Captación del coloide y desintegración para liberar las hormonas.
- g) Liberación.

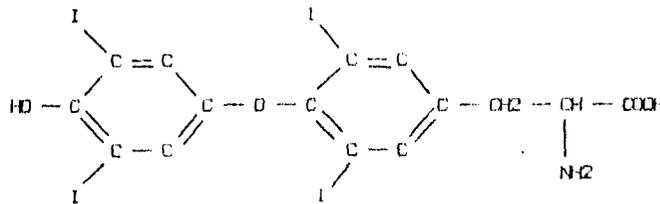
#### 4.3. - BIOSINTESES DE T3 Y T4.

T3 y T4 son hormonas derivadas de tirosina. Su estructura molecular es:

(4)



Triyodotironina (T3)



Tetrayodotironina (T4)

La biosíntesis de T3 y T4 se divide para su estudio en (7,9,64,24,100).

- 1).- Captación de yoduro
- 2).- Yodinación (introducción de I2 activo en la molécula de tiroglobulina).
- 3).- Reacción de acoplamiento.
- 4).- Captación del coloide y desintegración de tiroglobulina para liberar las hormonas activas (T3 y T4).

#### 4.3.1.- Captación del Yoduro.

La tiroides se caracteriza químicamente por su elevado contenido en yodo, que asciende a 2 mg. de yodo/g de peso seco de tiroides. La concentración de yodo tiroideo se encuentra como I<sup>-</sup> (yoduro) (12,24,103). El yoduro proviene de la dieta, diariamente se consumen aproximadamente 250 microgramos, aunque el consumo puede ser mayor debido a la ingesta de pescados, mariscos, sal yodatada y yodatos de la fabricación del pan (139).

Aproximadamente 50 microgramos, son utilizados para sintetizar hormonas tiroideas y los restantes 200 microgramos son excretados por los riñones en la orina. Encontrados previamente en otros tejidos como son: Intestino, Glándulas salivales, Hígado y Sangre. (12,33,61,118,139). Existe una porción de yodo adicional para la biosíntesis de las hormonas tiroideas y deriva del

metabolismo de las mismas.

Existen mecanismos autorregulatorios que protegen al organismo manteniendo las concentraciones constantes en plasma (aumentandose las adaptaciones mediadas por TSH a las ingestas reducidas de yodo así como al exceso de éste) (139).

Cuando aumenta la concentración de yodo plasmático, disminuye la organificación de éste, ya que la glándula aumenta su concentración en yodo, y esto provoca una disminución de la síntesis y la liberación de T3 y T4. (6,7,60,72).

La relación de proporción de I<sup>-</sup> en tejido y sangre es respectivamente 20:1, esto significa que un mecanismo de transporte activo debe bombear los Iones yoduro de sangre hacia la tiroides, el bombeo está ligado o acoplado a una Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPasa (7,32,98). Esta es una enzima cuya síntesis se activa por TSH y que se encuentra en la membrana basal de la célula folicular tiroidea y la cual funciona como bomba de yoduros.

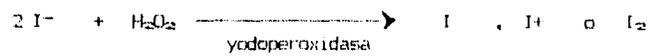
La bomba de I<sup>-</sup> puede concentrarlos dentro de la célula folicular contra un gradiente de concentración de 20:1 (9), y controla la excreción y retención de sodio, de tal manera que saca de la célula 3 Na<sup>+</sup> y mete 2 K<sup>+</sup> y el yoduro se introduce por un proceso de transporte activo secundario. (1,24,98).

Una vez captado el I<sup>-</sup>, es conveniente considerar otra etapa inicial: La síntesis de la enzima involucrada en la iodinación y el sustrato. El sustrato es tiroglobulina (yodoproteína de la glándula tiroides, glicoproteína que posee 2 subunidades proteicas de 330 KD y que posee un gran número de tirosinas, una constante de sedimentación de 19 S y 150 residuos de tirosilo factibles de ser yodados (7,9,24).

La enzima implicada en la iodinación es una peroxidasa tiroidea y se encuentra dentro de vesículas junto con la tiroglobulina; no es activa hasta que es desplazada hasta la superficie apical de la célula folicular. La enzima

oxida yoduro  $I^-$  a  $I$ ,  $I^+$  o  $I_2$  activo en presencia de peróxido de hidrógeno como aceptor de electrones.

La reacción que ocurre es:



#### 4.3.2.- YODINACION.

Esta etapa de la biosíntesis se caracteriza por que el  $I$  "activo" (yoduro oxidado) es incorporado espontáneamente dentro del anillo tirosilo de los residuos de tirosina que posee la tiroglobulina que se localiza en el coloide de la célula folicular. (7)

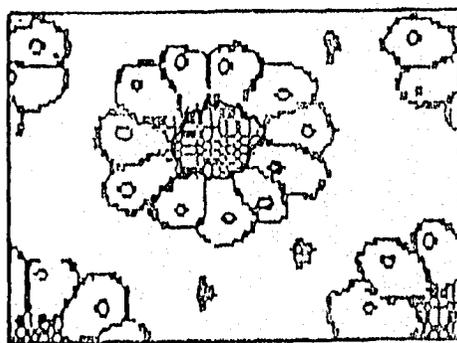
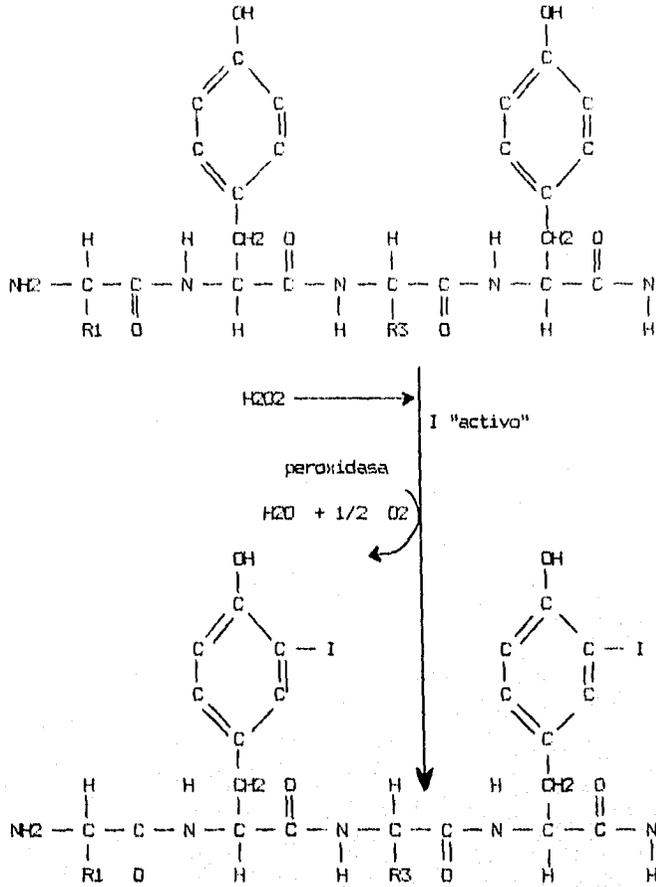


FIG. 2 FOLICULO TIROIDEO

4.3.2.1.- FASE 1: Síntesis de Monoyodotironina

TIROGLOBULINA



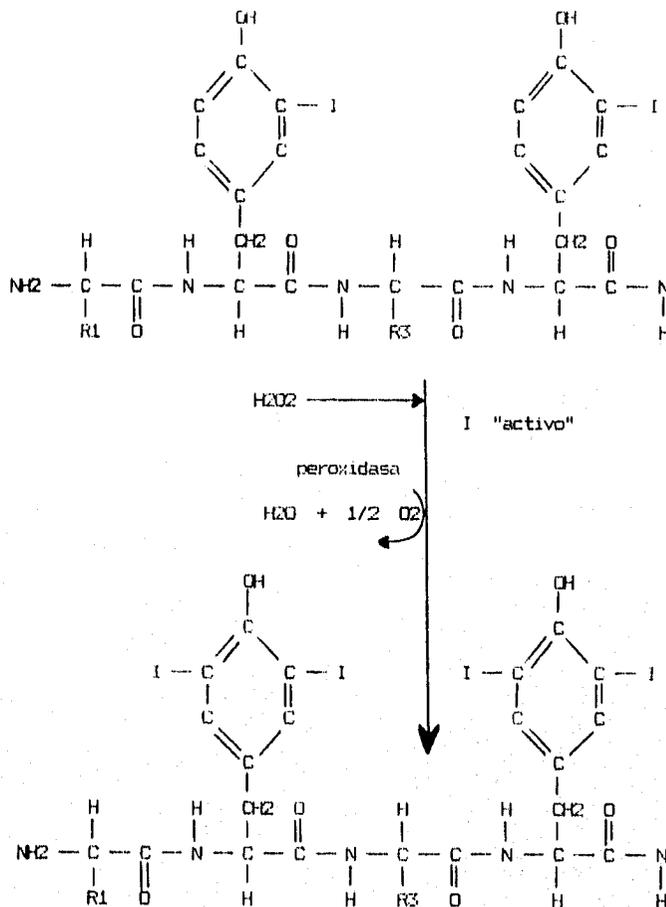
Yodinación en la posición 3 del anillo fenólico de radical tirosilo, para formarse monoyodo tirosilo (MIT):

La peroxidasa se encuentra en la membrana apical de la célula folicular tiroidea, de manera que reacciona con la tiroglobulina (coloidal) y con  $\text{I}_2$  y

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que están en el citoplasma cercano a la membrana apical.

#### 4.3.2.2.- FASE 2.- Síntesis de DIT.

Las monoyodotirosinas se yodinan en la posición 5 del anillo fenólico, bajo las mismas condiciones para formar diyodo tirosina.

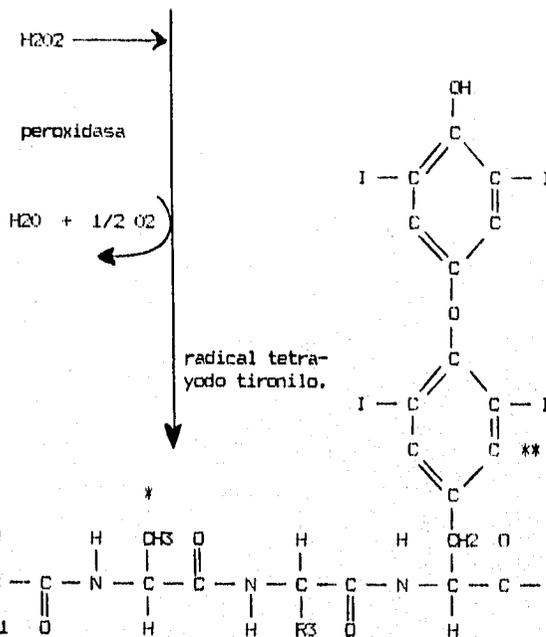
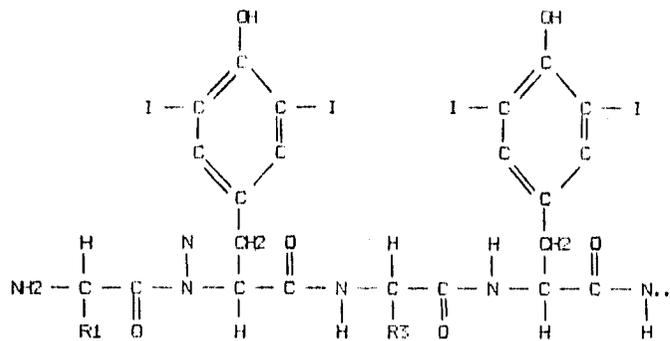


La yodinación de los residuos tirosilo en las posiciones 3 y 5 del radical da como producto la diyodotirosina (DIT), in vivo existe la evidencia de que la organización es facilitada por la peroxidasa (2,6,100).

#### 4.3.2.3.- REACCION DE ACOPLAMIENTO

Oxidación y condensación MIT y DIT para formar las yodotirocinas T3 y T4. Esta reacción es catalizada por la misma enzima: peroxidasa. Este paso representa un acoplamiento enzimático de dos moléculas de yodotirosina (24,33,47,71,77,82,100).

4.3.2.4.- Síntesis de T4 (tiroxina). - Si se acoplan dos moléculas de DIT, se forma T4:



\* Apreciese que un radical tironilo es convertido a metilo (de tironilo el aminoácido se convierte en alanina) y el otro tironilo \*\* capta el fenol del tironilo anterior.



(TRIYODO TIROXINA INVERSA O 3,3',5'-TRIYODOTIROXINA) es la misma aún cuando se señala que RT3 no es activa y que circulan en sangre ambas y T4 (7,98)

Se ha reportado que de la tiroglobulina que posee aproximadamente 140 tirosinas: como residuos tirosilo, 25 de ellos son iodinados y solo 2-5 de los yodados son acoplados para formar T3 y T4. Así también se establece que hay 4-10 veces más T4 que T3 (9,24).

4.3.3.- Captación del coloide y desintegración de tiroglobulina para liberar las hormonas.

La tiroglobulina que tiene los residuos de T3, T4, MIT, DIT (entre otros residuos de aminoácidos), es removida del coloide folicular mediante el proceso de endocitosis e ingresan a la célula folicular: (9,47,98,139).

Las vesículas endocíticas (que contienen tiroglobulina) se fusionan con los lisosomas para formar un endolisosoma; de esta forma las proteasas lisosomales actúan sobre la tiroglobulina, degradándola hasta aminoácidos; liberándose también T3, T4, MIT, DIT y RT3. (7,9,24).

MIT, DIT son desyodinadas o desyodadas (por una desyodasa específica) y el I- se reutiliza. Los aminoácidos son reciclados o metabolizados dependiendo de las necesidades de la célula, T3 y T4 libre difunden hacia sangre (6,7,9,33,47,68,82,139) enlazadas a 3 proteínas plasmáticas:

GLOBULINA FIJADORA DE TIROXINA (TEG).- Proteína a la que se enlaza un 70% de T4 y la que mantiene una unión lábil con T3.

PREALUMINA FIJADORA DE TIROXINA (TEPA).- o TRANSTIRETRINA.- Enlaza al 20% de T4 liberada.

ALUMINA FIJADORA DE TIROXINA (TBA).- Enlaza al 10% de T4 liberada mediante una unión lábil. (12,123)

Estas uniones con proteínas, ayudan a la dispersión de éstas hormonas en plasma para que sean distribuidas a varias células.

De estas 2 hormonas se ha establecido:

TABLA No. 1		
	T4	T3
RESERVAS EXTRATIROIDEAS	500 micro g.	100 micro g.
ACTIVIDAD RELATIVA	100	500-1000
VIDA MEDIA (TIEMPO DE ACCION)	7-10 días	2 - 4 días
RECAMBIO 24-HRS	80 micro g.	50 micro g.
ENTRADA EN LA CELULA	lenta, difícil	rápida, fácil

(8)

A pesar de que se producen ambas hormonas T4 es convertida a T3. En el proceso degradativo de tiroxina varios datos apoyan la importancia de esta conversión, ya que:

- 1). - En todos los sistemas estudiados T3 es más potente que T4 (64,24,33).
- 2). - Los receptores nucleares para las hormonas tiroideas prefieren T3 a T4 (8,22,24,64).
- 3). - La deficiencia de T3 produce hipotiroidismo aún en presencia de niveles normales de T4 (24,28,64).

En general se asume que T3 es responsable de la actividad biológica de las hormonas tiroideas y que T4 es una prohormona. La conversión de T4 a T3 se lleva a cabo en tejidos periféricos que disponen de una desyodinasas (desyodasa) de yodotironina. Por lo tanto T3 posee un mecanismo de acción en células blanco altamente específico.

#### 4.4.- EFECTO DE T3 SOBRE SUS CELULAS BLANCO.

Esta hormona provoca en sus células blanco lo siguiente:

- 1.- En la membrana celular, un exceso de T3 provoca un incremento de la bomba Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPasa, ésta requiere de un aumento de la energía liberada como ATP y O<sub>2</sub>. También se ha registrado a nivel de membrana, que T3 facilita el transporte de glucosa y aminoácidos a través de ella (7). La penetración de T3 a través de la membrana está dada por un mecanismo específico probablemente de tipo secundario.
- 2.- Existen proteínas citoplasmáticas que tienen poca afinidad y mucha capacidad de captación, fijan T3 en citosol. Estas proteínas fijadoras no son necesarias para transportar T3 al interior del núcleo, T3 penetra en el núcleo en forma libre.
- 3.- Ya en el interior de la célula T3 penetra al núcleo y se une a receptores nucleares (7). La tiroxina también puede unirse a este receptor, pero no lo hace tan ávidamente como T3 y en muchos órganos gran parte de T4 es convertida a T3 en el citoplasma por la enzima 5-desyodínasa, cuya actividad puede influir en la saturación de los receptores nucleares de T3, al convertir a T4 en T3 (8). La triyodotironina se une a proteínas no histonas de la cromatina, actuando sobre DNA para aumentar la síntesis de RNAr, RNAt y RNAm. El RNAm creado dicta la formación de las proteínas en los ribosomas y éstas actúan como enzimas que modifican la función celular. Debe haber toda una serie de proteínas participando en las acciones, ya que parece imposible, que cualquier grupo aislado de enzimas pudiera producir los múltiples y variados efectos de las hormonas tiroideas. Dentro de éstas proteínas y enzimas se encuentran: (2,7,9,77,90,111)

Acido graso sintetasa

Glucosa-6-P-deshidrogenasa  
6-P-gluconato deshidrogenasa  
Málico deshidrogenasa  
Acil fosfatasa (eritrocítica)  
Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPasa  
Ruta de biosíntesis del grupo hemo  
Enzimas proteolíticas  
Colágena  
Hormona del crecimiento en pituitaria  
Proteína fijadora a hormonas sexuales y esteroides  
alfa-glicerolfosfato mitocondrial (7).

La acción calorígena de T3 al parecer esta mediado a través de una proteína inducida, ya que es bloqueada por inhibidores de la síntesis proteica. Las hormonas aumentan la actividad ejercida en muchos tejidos por la Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPasa de la membrana, y se cree que el aumento en el consumo de energía, y el aumento en el transporte de Na<sup>+</sup> son la causa de que se eleve la tasa metabólica. La síntesis de proteínas en las mitocondrias se encuentra aumentada. (33). T3 aumenta la fase de fosforilación oxidativa; incrementada por el ADP para la síntesis de ATP. (7).

4.- La penetración de análogos de hormona tiroidea en el núcleo parece estar regulado por un sistema de transporte esteroespecifico en la membrana nuclear. el sistema de transporte distingue entre L-T3 y D-T3 en los hepatocitos.

5.- Se ha propuesto la existencia de un receptor mitocondrial de T3 que regula sus efectos, independientes del núcleo.

6.- Estimula la penetración de aminoácidos y azúcares por medio de un mecanismo de transporte activo independiente de los efectos nucleares de T3.

7.- T3 estimula la Ca<sup>2+</sup> ATPasa del sarcolema, provocando la salida del calcio

del retículo sarcoplásmico para la contracción muscular.

8.- T3 y RT3 influyen en la actividad de la desyodasa 5' de tipo II en el cerebro. Esta influencia es independiente de la acción nuclear de T3 (64).

9.- Influye en el desarrollo cerebral de neonatos, promoviendo la formación de dendritas y la mielinización. (36,112).

10.- Es potencial metastásico de neoplasias, repercutiendo en el desarrollo de un tumor (111).

11.- El hígado es un sitio de depósito de T3 y T4, influye en el contenido del citocromo P-450 y las oxidaciones de fármacos dependientes de sus hemoproteínas. (121).

Finalmente hay que señalar que T3 y T4 son catabolizadas en el hígado por la enzima Uridin-difosfato-glucoronil-transferasa para formar glucurónidos al desyodarse y conjugarse. Son drenadas en la bilis al duodeno para ser eliminadas del organismo a través del sistema digestivo. (5).

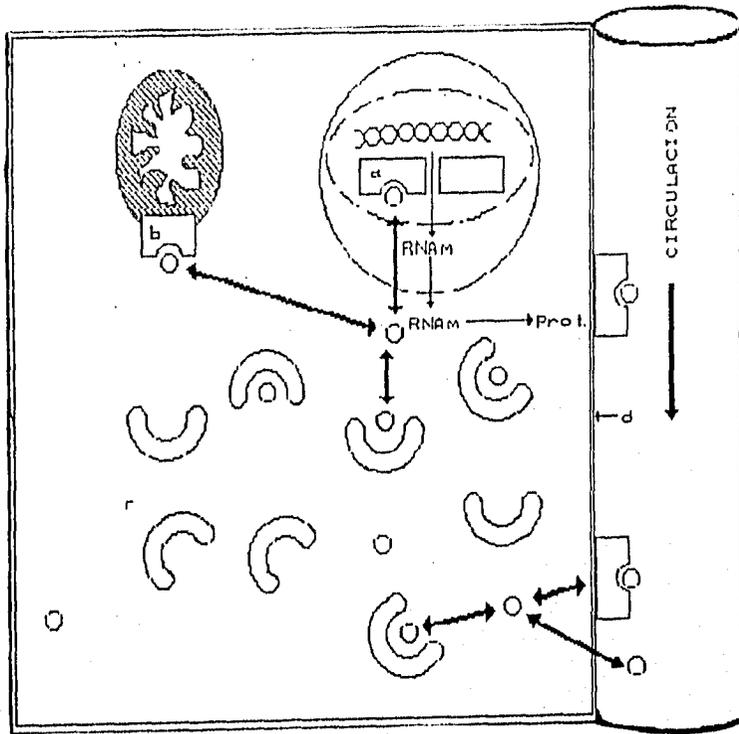


Figura 3. Los organelos celulares en que es reconocida la Triiodotironina; en los receptores proteínicos a los que se adhiere: a.- núcleo (interactúa en proteínas no histonas del DNA). b.- mitocondria. c.- citoplasma. d.- membrana celular. (5)

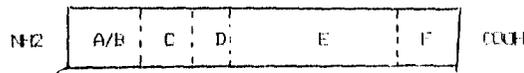
## 5.- RECEPTORES DE T3

La importancia de la glándula tiroidea ha sido reconocida por siglos. El descubrimiento en el siglo XIX de que el cretinismo y el mixedema resultan de la pérdida de la función tiroidea marcan el descubrimiento de T4 y T3 como la más predominante y la más potente de las hormonas respectivamente. Durante las siguientes décadas, la membrana plasmática, retículo endoplásmico y mitocondria han sido consideradas como sitios celulares potentes de acción de las hormonas tiroideas. En los 60's sin embargo, fue notado que algunas de las acciones fisiológicas de T3 eran precedidas por transcripción de RNA nuclear, y alta afinidad de los receptores nucleares de T3 fue descubierta muy pronto (96,110). La especificidad de los receptores nucleares de T3 (TRs) para análogos de la hormona tiroidea estrechamente paralelos en la potencia biológica de sus componentes y los niveles de TRs nucleares correlacionan bien con el desarrollo y efectos en tejido específico de T3 en la mayoría de los casos (97,110). Así pues aunque las hormonas tiroideas pueden tener algunas acciones importantes no nucleares, el concepto de que la mayoría de las acciones son mediadas por TRs nucleares fue generalmente aceptada en los 80's. El descubrimiento de múltiples isoformas de TR y la caracterización de su estructura, regulación, propiedades, y funciones son las que se tratan en este capítulo.

### 5.1 Estructura molecular de los receptores de hormonas tiroideas.

La caracterización bioquímica inicial de TRs de una variedad de fuentes revelan un peso molecular aproximado de 50 Kdalton con una afinidad de T3 de aproximadamente  $10^{-10}$ M (119). Estudios utilizando fotoafinidad de ligandos sugieren la existencia de múltiples isoformas de TR en células de pituitaria (16), pero la labilidad y baja abundancia de los TR nos lleva a una examinación

más intensa. Sin embargo, estudios de la inducción del gene de transcripción GH de rata por T<sub>3</sub> sugieren que los TR reconocen secuencias específicas de DNA (elementos de respuesta T<sub>3</sub> o TREs) en la región promotora del gene (15). Esta característica de los TR es importante en los receptores de glucocorticoides, estrógenos y receptores de progesterona (14). De hecho, los TR y receptores de la hormona tiroidea comparten 3 propiedades, sitio de acción nuclear, secuencia específica de reconocimiento de DNA y la habilidad para regular la transcripción genética. Los receptores esteroideos tienen una estructura de dominio característica ilustrada en la fig. 4 (26,44).



DNA

HORMONA

Hormona Tiroidea

Acido retinoico

Vitamina D

Estrógenos

Andrógenos

Progesterona

Glucocorticoides

Mineralocorticoides

Fig. 4 Superfamilia de receptores hormonales esteroides/tiroideas. El prototipo del receptor hormonal nuclear es mostrado. Los dominios están marcados de la A-F; el dominio C es el DBD. Los receptores indicados tienen estructuras similares. (44).

Receptores para ligandos relacionados, p. ej. mineralocorticoides y glucocorticoides tienen la misma similaridad en los dominios de enlace hormonal D-E-F (HBD). Sin embargo la región más altamente conservada de las proteínas es el dominio C, el dominio de enlace de DNA (DBD) contiene aminoácidos básicos organizados dentro de estructuras como dos dedos por dos grupos de cuatro residuos de cisteína, coordinados por un átomo de zinc (27). Sorprendentemente la presencia de este DBD motivó la presencia de una proteína nuclear codificada por el oncogene v-erb-A derivada del virus de eritroblastosis avian (42). Los homólogos celulares de esta oncoproteína retroviral, c-erb-A similarmente contienen un DBD característico de los receptores hormonales, pero un muy diferente HBD. La conexión entre c-erb-A y los receptores esteroides viene a partir de 1986 cuando dos investigaciones desarrolladas simultáneamente publicaron el descubrimiento de que la proteína c-erb-A tiene una alta afinidad por TR (137).

#### 5.2 Múltiples isoformas de receptores de T3 (TR).

Los reportes iniciales de la estructura de TR fueron interesantes, pero a la vez un acertijo. Un TR fue estructurado de un embrión de pollo, mientras otro fue separado de una placenta humana (137) y hubo grandes diferencias particularmente en el dominio A/B. Esto nos da cierta claridad de que las diferentes secuencias de TR reflejan múltiples isoformas y no simples especies de variación, cuando un TR de rata con homología en la estructura del de pollo se pudo apreciar, en el humano está localizado en el cromosoma 17, distinto del gene en cromosoma 3 que codifica la estructura de la placenta (126). Las isoformas TR de rata y pollo fueron llamadas TR alfa porque ellas fueron más similares a la oncoproteína v-erb-A que el TR humano, el cual fue referido como TR beta. Subsecuentemente otros laboratorios reportaron formas

adicionales en el pollo, rata y humano. La clonación de isoestructuras TR alfa de humano (89), ratón (104) y *Xenopus laevis* (144) e isoformas TR beta de rata (70), pollo (31), ratón (141) y *Xenopus* (144) claramente muestran que la existencia de múltiples TRs se extiende a través de la variedad de especies. La diversidad de TRs además se incrementa por la generación adicional de isoformas de los genes alfa y beta. Como se muestra en la fig. 5

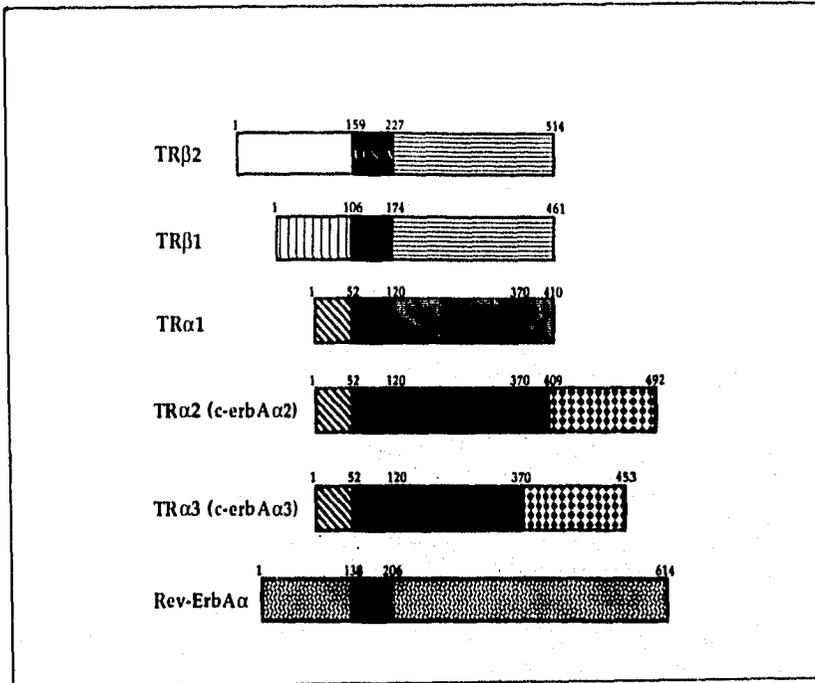


Fig. 5 Múltiples isoformas de las proteínas relacionadas en la retina. La secuencia de aminoácidos es deducida de RNA complementario de rata. El número de residuos de aminoácidos está indicado en cada forma. El porcentaje de similitud de aminoácidos en el DLD está además indicado (número del primer residuo de cisteína). Patrón idéntico, indican 100% de identidad. Patrones similares (líneas horizontales) indican secuencias altamente similares en TR beta y TR alfa1. El TR alfa2 humano tiene 2 aminoácidos en su único carboxilo terminal, y algunas isoformas de TR de pollo y Anoxias tienen residuos en los otros dos.

### 5.2.1. Isoformas de TR beta.

Una segunda isoforma de TR beta, TR beta2 es derivada del uso de un exón alternativo en 5' en el gene TR beta, resultando un TR que es idéntico a TR beta1, en todo, pero difiere en su dominio A/B. TR beta2 fue originalmente separado de rata (83) y más recientemente clonado de ratón (141) y pollo (120), también ha sido identificado inmunohistologicamente en tejido humano, además 2 otras formas de TR beta identificadas en pollo que difieren de TR beta1 en su dominio A/B extrínsecamente corto (31), y son divergentes uno de otro en sus regiones 5' no transducidas. Interesantemente *Xenopus* tiene dos distintos genes TR beta produciendo numerosas transcripciones relacionadas a TR beta1 las cuales difieren al final de sus 5', algunas veces incluyendo porciones trasladadas dentro del dominio A/B, pero ninguno es altamente homólogo a TR beta2.(144).

### 5.2.2. TR alfa, isoformas y productos genéticos.

La expresión genética de TR alfa es algo complicada. La iniciación de la traslación de un sitio interno en el RNA del pollo, resulta en una isoforma TR alfa carente del dominio A/B (85), el cual aún no es descubierto en mamíferos. En rata (85), hombre y ratón (104) alternativamente empalman en el exón 3' de TR alfa1 resultando en la generación de una no variante de TR3 enlazada al C-terminal. TR alfa2 (además referida como c-erb-A alfa2 y TRVI) carece en el C-terminal de 40 aminoácidos de TR alfa 1, pero contiene 120 aa. adicionales (humano) o 122 (rata o ratón) no homólogos de otras secuencias conocidas. En la rata un sitio de empalme alternativo resulta en una forma más corta, TR alfa3 (además llamada c-erb-A alfa 3 y TRVII), el cual carece de 39 aminoácidos en la unión de la región común a TR alfa1 y única a TR alfa2 (85). Interesantemente el análogo de TR alfa2 no ha sido encontrado en pollo o sapo.

### 5.2.1. Isoformas de TR beta.

Una segunda isoforma de TR beta, TR beta2 es derivada del uso de un exón alternativo en 5' en el gene TR beta, resultando un TR que es idéntico a TR beta1, en todo, pero difiere en su dominio A/B. TR beta2 fue originalmente separado de rata (53) y más recientemente clonado de ratón (141) y pollo (120), también ha sido identificado inmunohistológicamente en tejido humano, además 2 otras formas de TR beta identificadas en pollo que difieren de TR beta1 en su dominio A/B extremadamente corto (31), y son divergentes uno de otro en sus regiones 3' no transducidas. Interesantemente *Xenopus* tiene dos distintos genes TR beta produciendo numerosas transcripciones relacionadas a TR beta1 las cuales difieren al final de sus 5', algunas veces incluyendo porciones trasladadas dentro del dominio A/B, pero ninguno es altamente homólogo a TR beta2.(144).

### 5.2.2. TR alfa, isoformas y productos genéticos.

La expresión genética de TR alfa es algo complicada. La iniciación de la traslación de un sitio interno en el RNA del pollo, resulta en una isoforma TR alfa carente del dominio A/B (85), el cual aún no es descubierto en mamíferos. En rata (85), hombre y ratón (104) alternativamente empalman en el exón 3' de TR alfa1 resultando en la generación de una no variante de T3 enlazada al C-terminal. TR alfa2 (además referida como c-erb-A alfa2 y TRVI) carece en el C-terminal de 40 aminoácidos de TR alfa 1, pero contiene 120 aa. adicionales (humano) o 122 (rata o ratón) no homólogos de otras secuencias conocidas. En la rata un sitio de empalme alternativo resulta en una forma más corta, TR alfa3 (además llamada c-erb-A alfa 3 y TRVII), el cual carece de 39 aminoácidos en la unión de la región común a TR alfa1 y única a TR alfa2 (85). Interesantemente el análogo de TR alfa2 no ha sido encontrado en pollo o sapo.

Otra proteína de roedor y humano relacionada a TR y derivada del locus genómico TR alfa es Rev-Erb-A alfa (además llamada ear-1), la cual es codificada por el filamento no codificado del gene TR alfa1/alfa2 (76). Este gene Rev-Erb-A alfa traslapa en el exón alfa2-específico, pero termina 3' en el sitio de poliadenilación TR alfa1. Rev-Erb-A alfa y RNAm de TR alfa2 son complementarios en un tramo de 269 nucleótidos debido a la transcripción bidireccional de un exón común. La proteína Rev-Erb-A alfa es por sí misma miembro de una superfamilia de receptores hormonales esteroides/tiroides, pero no enlaza a T3.

### 5.3. Regulación de la expresión genética de TR.

La expresión de diferentes isoformas de TR es regulada transcripcionalmente y postranscripcionalmente con el RNAm codificando cada isoforma de TR exhibiendo patrones característicos de desarrollo, tejido específico y regulación hormonal. Podría ser notado que el RNAm y concentraciones proteicas no siempre correlacionan (124), por ejemplo la concentración proteica de TR beta1 en hígado de rata disminuye más rápidamente que la reducción paralela de su RNAm (73).

#### 5.3.1. TR beta2

El más altamente regulado de las isoformas de TR es TR beta2 de cual su RNAm es abundante en la pituitaria anterior y no detectable en hígado, riñón, corazón, cerebro y otros órganos de rata adulta. (53). El RNAm de TR beta2 es además detectada en el hipotálamo (18). Existe además evidencia de que el TR beta2 de pollo es expresado específicamente en el desarrollo de la retina (120). En células pituitarias los niveles del RNAm de TR beta2 son regulados negativamente por 60-90% por T3 por sí mismo (53). En células GH3 de

adenoma de pituitaria de rata, este efecto de T3 ocurre a nivel de transcripción (23), y requiere de síntesis proteica en marcha como otros efectos en este modelo de sistema de T3 y es bloqueado por el ácido retinoico, quizás a través de la heterodimerización del receptor. El tripéptido TRH además lleva a cabo una regulación modestamente negativa de los niveles de RNAm de TR beta2 (57). El propósito fisiológico de la regulación hormonal de TR beta2 no es claro. Sin embargo TR beta2 puede ser particularmente importante para pituitaria en la respuesta de T3 porque una depleción profunda (mayor al 95%) del RNAm de TR beta2 por butirato de sodio, es acompañada por reducción de la capacidad de enlace y respuesta de T3 en células GH3 (122).

#### 5.3.2. Otras isoformas de TR.

A diferencia de TR beta 2, el RNAm de las isoformas que codifican para TR alfa1, alfa2 y beta1 son expresadas virtualmente en todos los tejidos, aunque ellos tienen distribuciones características. Por ejemplo TR alfa 1 es abundante en músculo esquelético y en grasa, alfa2 es abundante en cerebro (85) y TR beta1 es homogéneamente distribuido, pero más en cerebro hígado y riñón (70). Estas isoformas de TR no son afectadas por TRH (57) y butirato pero son reguladas por T3, aunque no a la misma extensión que TR beta2. Los niveles de RNAm tanto de TR alfa1 y alfa2 disminuyen un poco en una gran variedad de tejidos de rata, con la notable excepción del cerebro (64) como consecuencia de la administración de T3, mientras los niveles de RNAm de TR beta1 no responden a T3, excepto en pituitaria donde el RNAm es inducido. En contraste el TR beta1 de *X. laevis* responde a T3 en la mayoría de los órganos estudiados (59).

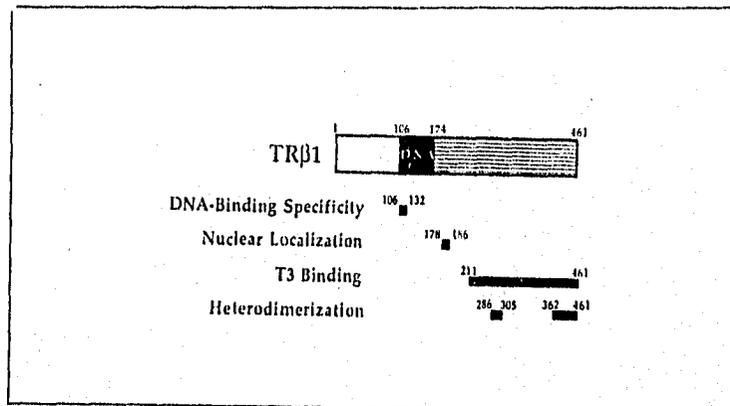
A partir de que el RNAm de TR alfa1 y TR alfa2 empalman alternativamente

productos de un gene sencillo, sus niveles relativos de expresión dependen sobre la porción de poladenilación del exón específico de TR alfa1, el cual genera RNAm TR alfa1 y la porción de empalme del exón específico de TR alfa1, el cual genera RNAm de TR alfa2. La regulación de este proceso puede involucrar RNAm Rev-Erb-A alfa, el cual es complementario de a TR alfa2. Verdaderamente niveles incrementados de RNAm Rev-Erb-A alfa correlacionan con un incremento en la porción de TR alfa1 a RNAm TR alfa2 y RNAm Rev-Erb-A alfa ha mostrado inhibir el empalme eventual que genera TR alfa 2 in vitro (87). La ontogenia de las isoformas de TR es particularmente interesante. En ratas (124) pollos (31) y anfibios (143), la isoforma TR alfa1 es expresada a elevados niveles que TR beta1 temprano en el desarrollo, incluyendo un periodo antes que la glándula tiroidea sea formada (124). RNA de TR beta1 se incrementa desproporcionalmente como procedimiento de desarrollo (59,124). En el renacuajo la inducción de RNAm TR beta1 durante procesos dependientes de T3 de la metamorfosis es debido a un efecto directo de T3 en la expresión genética de TR beta1 (59). El papel específico de TR beta1 en el desarrollo no es bien comprendido, no es la función de TR alfa1 antes de la circulación de hormonas tiroideas. En el cerebro de rata hay picos de expresión de RNAm TR alfa1 durante las tres primeras semanas después del nacimiento. Las isoformas de TR que no enlazan T3, TR alfa2 y TR alfa3 predominan en el cerebro fetal neonatal y en el adulto, aunque hay diferencias en regiones específicas en la expresión que pueden ser importantes para la regulación de efectos cruciales de T3 en el desarrollo del cerebro. (124).

#### 5.4. Propiedades de las isoformas de TR.

##### 5.4.1. Características generales y estructura de dominio.

TRs regulan la transcripción de genes específicos en presencia de concentraciones fisiológicas de T<sub>3</sub>. De hecho los TRs deben trasladarse a los núcleos después que ha comenzado a sintetizarse en el citoplasma, e interactuar en los núcleos con T<sub>3</sub>, genes blanco y otras proteínas requeridas para la transmisión genética basal dependiente de T<sub>3</sub>. Los dominios de TR que son conocidos se involucran en funciones específicas que son mostradas para TR beta1 en fig. 6 y las propiedades de la mayor isoforma de TR son resumidas en la fig. 7.



(124)

FIG. 6. Dominios funcionales del receptor de la hormona tiroidea. Los números de aminoácidos para TRβ1 está ilustrado. Los dominios responsables para el enlace específico de DNA incluye la P-box, la cual está detallada en la fig. 8

53 kDa	++	+	+	+
58 kDa	++	+	+	+
47 kDa	++	+	+	+
55 kDa	+	-	-	- (Inhibitor)

FIG. 7. Propiedades de las isoformas de TR. Los pesos moleculares son deducidos de las secuencias de rata cDNA. Alfa2 inhibe la capacidad de las otras isoformas de TR para activar la transcripción en presencia de T3. (53).

Los TRs de los núcleos celulares parecen ser dictados por una señal de secuencia en el dominio D (B1). La región D además contiene una región que es requerida junto con el extremo C-terminal del TR, para el enlace de T3. Las isoformas TR alfa1, beta1 y beta2 todas enlazan a T3 con alta afinidad y especificidad, aunque existen diferencias sutiles en el enlace de los análogos de T3. La significancia funcional de esas diferencias es desconocida (49,85). En contraste el C-terminal de la variante TR alfa2 es incapaz de enlazar a T3 porque carece de 40 aminoácidos que son necesarios para enlazar T3 y conservarlos altamente entre los TRs (85). La función de los dominios A/B es desconocida. La depleción del dominio A/B no tuvo efecto sobre la activación transcripcional en rata (125). TR alfa de pollo contiene al menos 2 diferentes sitios de fosforilación de

serina en el dominio A/B, pero la significancia de la fosforilación en la regulación de función de TR, hasta ahora no es bien comprendida. (1593).

#### 5.4.2. Enlace a DNA.

La habilidad de reconocer genes específicos es un aspecto de particular importancia en la función de TR. La superfamilia de receptores nucleares ha sido dividida en 2 grupos en base a la "P-box" (caja-P) un dominio que es importante para la especificidad de enlace de DNA, presente en el primer dedo de Zinc del DBD (4). El P-box del receptor de la hormona tiroidea es idéntico al receptor del ácido retinoico (RAR), receptor retinoico X (RXR), receptor de vitamina D, receptor activador proliferador peroxisomal (PPAR), así como un número de miembros de la superfamilia sin ligandos conocidos ("receptores huérfanos") (94), incluyendo Rev-Erb-A alfa, fig. 8.



FIG. 8. La P-box y otros receptores similares. La secuencia mostrada corresponde a los aminoácidos 106-132 de TRβ1, el cual incluye el primer dedo de Zinc. Los receptores cuyas secuencias son mostradas para comparación son RAR, RXR, receptor de vitamina D (VDR) receptor activador proliferador peroxisomal (PPAR), receptor estrogénico (ER) y Rev-ErbAalfa (94).

Esos receptores enlazan preferentemente en la secuencia AGGTCA, referida como su sitio medio debido a que múltiples receptores en este subgrupo activan la transcripción de genes cuyos promotores contienen 2 copias de esta secuencia arreglados como una repetición invertida (TRep) (39). Todos los TRs que enlazan a esta secuencia lo hacen con mayor afinidad que c-erb-A alfa2 (62), cuyo único C- terminal inhibe su enlace (62). El reconocimiento del gene blanco específico dentro del subgrupo TR es determinado al menos en parte por la orientación y espacio de los sitios medios AGGTCA (133). En el caso de TR aquí hay un enlace preferencial a 2 sitios medios de repetición directamente AGGTCA separados por cuatro pares de bases. La repetición directa sin un cuarto par de base (DR4) provoca al parecer la involucración de la inducción mediada por TR de un número no específico de genes, incluyendo cadena pesada de alfa-miosina y enzima málica. Los TR hacen contacto directo con ambos sitios medios de DR4 y TRep. La función del enlace de DNA puede ser traer el dominio de activación transcripcional del TR o proteínas asociadas más cercanas a otros factores de transcripción y este proceso puede ser facilitado por la habilidad del TR para doblar al DNA (78).

#### 5.5. Homo y Heterodimerización.

La estequiometría del enlace de TR a DNA es también variable. Los monómeros de TR y homodímeros pueden interactuar con sitios de enlace conteniendo dos copias del AGGTCA. En el caso de DR4 y los motivos repetidos invertidos, aparece cooperación positiva a favor del enlace homodimérico (136), aunque dos receptores pueden enlazar independientemente a dos sitios medios también. Interesantemente T3 puede atenuar grandemente el enlace de homodímeros TR a algunos pero no todos TRes sin

afectar el enlace del monómero TR y heterodímeros (107). El enlace del monómero TR y homodímeros es relativamente débil, debido a su rápida disociación del complejo TR-TRE (136). Sin embargo TR enlaza a DNA mucho más establemente en la forma de un heterodímero con otras proteínas nucleares. El mayor compañero heterodímero TR son isoformas de RXR, un miembro de la superfamilia de receptores hormonales esteroides/tiroides que es responsable de todos los trans RA derivados, 9-cis RA. Los TR pueden además heterodimerizarse con el RAR (136), aunque esta interacción parece ser más débil que la dada entre TR y RXR (130) y con promotor de factor de transcripción sobre ovalbúmina de pollo (COUP-TF)(130), otro miembro de la superfamilia de receptores esteroides/tiroides. Es probable que miembros adicionales de la superfamilia de receptores nucleares hormonales y otras proteínas puedan ser encontrado que interactúan con TR, desde una variedad de proteínas específicas de la célula de diferentes pesos moleculares aparentes que ha sido encontrado enlazan TR (175).

Al menos 2 regiones de TR son necesarias para la heterodimerización (62). Fig. 6, quizás indicando la existencia de 2 interfases de dimerización. El punto más cercano a DED es particularmente interesante debido a mutaciones en esa región también inhibiendo activación transcripcional por el TR sin afectar significativamente el enlace de T3. Además la mayor parte del C-terminal del dominio de interacción está ausente en TR alfa2, el cual es incapaz de heterodimerizarse con otras proteínas nucleares (62). La divergencia de TR alfa1 y alfa2 ocurre a la mitad del noveno "heptad repeat" (repetición enterada) en TR alfa1 implicada originalmente como involucrada en las interacciones TR-RAR por estudios funcionales de receptores mutantes (29). No es aún claro si los dominios responsables para la homo y heterodimerización de TR son idénticos. La formación de homodímeros ocurre a

expensas de la formación de heterodímeros cuando hay concentración de TR suficientemente elevada, sugiriendo alguna relación entre las dos funciones. Sin embargo TR alfa2 puede enlazar a DNA como monómero y heterodímero despreciando su inhabilidad a formar heterodímeros estables (62). Además el C- terminal ha sido descrito tener tanto efecto estimulador como inhibidor en la homodimerización.(62).

## 5.6 Regulación Transcripcional por TRs.

### 5.6.1. TR no ligados.

El TR no ligado está localizado en el núcleo celular eventualmente en ausencia de T3, enlaza a TREs en genes específicos. Esta situación es semejante a los receptores de las hormonas esteroides, porque los TRs no están anclados citoplasmáticamente a proteínas de choque de calor y enlazan a TREs en ausencia de hormona (107,136). En general la transcripción basal de genes que son activados por T3 es reprimida por el TR no ligado, aunque TR beta es un activador constitutivo transcripcional de levadura y ejemplos de tipos celulares e isoformas de ligando específico, independientemente de la activación por TR no ligado en células de mamífero han sido reportadas (30). Las regiones de TR responsables de la represión basal por el TR no ligado están localizadas en el C- terminal, interactúan en el dominio y transfieren a proteínas heterólogas de enlace a DNA o también responden a receptores relacionados como RAR que son inhibidos predominantemente por TR no ligados. Este efecto puede ser demostrado con fragmentos del C-terminal de TR que carece de DBD, también como con TRs no comunes, sugiriendo que las interacciones proteína-proteína son importantes para este efecto (29). Esto puede involucrar directamente una interacción TR/RAR o

competición para importantes correguladores como RXR. Interesantemente la resistencia generalizada a T3 es un síndrome heredado dominante, causado por mutaciones puntuales en el HED de TR beta el cual reduce marcadamente el enlace de T3 sin afectar otras funciones de TR, sugiriendo que ellos pueden actuar por el mismo mecanismo como el TR no ligado no común. Sin embargo la inhibición dominante del TR tipo no común funcional por TRs mutantes es prevenido por la introducción de una mutación adicional en el DED el cual suprime el enlace TRE, indicando un papel importante para el DED también (51).

#### 5.6.2. TR ligado.

El enlace de T3 puede activar o reprimir TR mediadores de la transcripción genética. La acción positiva de TREs incluye el TREp idealizado (39) y DR4 (133), también como las variantes que ocurren naturalmente de DR4 y la extensión de activación correlaciona con la fuerza de la interacción de TR-TRE in vitro. No es conocido aún cuales formas de enlace TRE de TR (monómeros, homodímeros o heterodímeros) participan en una regulación positiva o negativa. El ligando homodímero puede ser responsable para la inhibición basal o invertida de transcripción, pero no activador transcripcional de TREs al cual T3 inhibe enlace de TR homodímero (107). Verdaderamente aunque el enlace de DNA por el homodímero TR es cooperativo en algunos casos, el enlace preferido de heterodímeros TR a una variedad de TREs y la presencia de compañeros heterodímeros, incluyendo múltiples formas de RXR, en casi todas las células se sugiere que los heterodímeros TR juegan un mayor papel en la acción de T3. Sin embargo la ubicua existencia de múltiples RXRs y otros potenciales coactivadores de TR hacen difícil demostrar un papel de esas proteínas para transferencias genéticas. No obstante la sobreexpresión de RXR

potencia la modesta acción de TR (2 a 4 veces) (51,144), así como hace adición del ligando para RXR 9-cis RA. Sin embargo la sobreexpresión de COUP-TF, otro heterodímero TR (130) inhibe la acción de T3 (130), aunque este efecto puede ser debido a la competición para enlace de DNA también como la formación de heterodímeros COUP-TF potencialmente inactivos. En algún evento la habilidad para múltiples isoformas de TR para formar heterodímeros con algunos compañeros, cada heterodímero tiene potencialmente funciones transcripcionales únicas del gene específico y célula específica, claramente crean un complejo el cual puede explicar la variedad de acciones de T3 en diferentes tejidos a diferentes estados de desarrollo.

La regulación negativa de transcripción por el TR es eventualmente menos comprendido. En algunos de los mejores estudios, como la regulación negativa de los genes codificando la subunidad alfa y beta (140) y subunidades de TSH, los TREs están cerca del sitio de comienzo de transcripción, sugiriendo que ellos pueden actuar por interferencia con montaje o precesión del complejo de transcripción basal. En algunos casos la orientación específica y espacio de 2 sitios medios puede mediar preferentemente una regulación negativa. Otros TREs contienen solamente un sitio medio, el cual puede ser ocupado primariamente por los heterodímeros TR con alta afinidad para esos sitios (128). Otro mecanismo de regulación negativa por el TR involucra la inhibición del enlace de DNA por otros realzadores de transcripción como c-jun y c-fos (145), una propiedad compartida con otros receptores de hormona nucleares. Aunque este antagonismo funcional puede ser debido a una competición directa para sitios de unión relacionados a DNA, estudios recientes arguyen fuertemente por un mecanismo de interacción proteína-proteína subrayando este efecto. (145).

### 5.6.3. TR alfa2.

TR alfa 2 falla a transactivar de TREs, debido al menos en parte a su inhabilidad de enlazar a T3. Enlaza a TREs, con menor afinidad que otras isoformas de TR (62) y tiene la propiedad importante de comenzar inhibiendo TR mediada de transactivación dependiente de T3 (69). Este efecto negativo dominante es similar al que se observa para la oncoproteína v-erb-A, la cual tiene mutaciones en el C-terminal (relativos al TR alfa de pollo) dando una incapacidad de enlazar a T3 descrita anteriormente. El mecanismo por el cual TR alfa2 interfiere con la función de TR no es bien comprendido, pero TR alfa2 no forma heterodímeros que enlazan a DNA con TRs y compañeros de heterodimerización endógenos de TR, incluyendo RXRs (62). Interesantemente, TR alfa2 parece no tener efecto en la regulación negativa por TRs (105). La función de la variante corta de TR, TR alfa3, es completamente desconocida.

## 6.- MECANISMO DE ACCION

Se ha propuesto que T3 en su célula blanco actúa a nivel de receptores nucleares, es decir es fijada específicamente a una proteína receptora en el núcleo celular, originando alteraciones en la expresión de algunos genes (64,37,43,77,90,95).

En 1972 fueron identificados los sitios de fijación de T3 en los núcleos de la hipófisis y posteriormente en el hígado y riñón. Estos sitios constituyen un sistema con capacidad limitada para fijar T3 con gran afinidad. (64).

Posteriormente se demostró que estos lugares nucleares de fijación existen también en el corazón y cerebro, en concentraciones bajas en bazo y testículos.

En los lugares receptores de los núcleos hepáticos de rata se han estimado alrededor de 5000 sitios por núcleo que fijan T3 con afinidad  $10^{-8}$  M in vivo. (64).

La membrana celular suele contener un sistema de transporte, T3 penetra probablemente por difusión (7); este sistema de transporte distingue entre enantiómeros de hormona tiroidea, se registra una mayor afinidad por el isómero L-T3 que por el D-T3, ya que L-T3 tiene mayor actividad biológica (6 veces más que D-T3).

La hormona se une a proteínas intracelulares citoplasmáticas, siendo transportada hasta el núcleo (32), atravesando la membrana nuclear, probablemente por transporte activo. (95) Y aquí interactúa con los receptores nucleares.

La naturaleza química de los receptores es un complejo proteico unido a DNA. La interacción T3 receptor conduce a la respuesta de formación de RNA mensajero y éstos en la producción de varias proteínas. (95).

Se ha comprobado que el receptor es una familia de proteínas no histonas firmemente unidas a la cromatina que se une con gran afinidad al DNA de doble hebra. Uno de estos receptores posee un peso molecular de 50,000 a 55,000 Daltons con un radio Stokes de 3.3 nanómetros. Estas características físicas son idénticas en diversos órganos de una misma especie (rata) y en especies diferentes como lamprea, trucha, renacuajo, pollos y hombres (64).

Para él, se ha propuesto una porción de su estructura en la cual participa el  $Zn^{++}$ , con el que se reconoce una región denominada "DEDOS DE ZINC" y que es la región que interactúa con el DNA nuclear, que induce o reprime una secuencia específica de genes. (7,9).

El acoplamiento de la hormona tiroidea con el receptor es necesario para que esté atado al DNA. El receptor de T3 es parte de una superfamilia de receptores, varios de éstos pueden unirse a diferentes segmentos de DNA o genes, por ello inducen o inhiben la producción de diferentes productos génicos (enzimas) (7).

Existe evidencia de que los receptores para la hormona tiroidea pueden también jugar o desempeñar un papel en el cáncer (7).

Un oncogen (genes relacionados con ciertos cánceres), el V-erb A, está asociado con ciertos tipos de leucemia (6,9). El producto del oncogen V-erb-A es el receptor para la hormona tiroidea (7,37,66).

La relación entre éste receptor y el cáncer no es clara. Una posibilidad radica en que este receptor actúe sin estar unido a la hormona tiroidea. Colocado en una posición en que está listo para estimular constantemente el DNA nuclear produciéndose por transcripción y traducción genética varias enzimas que incrementan el crecimiento (6,112). Este gen obstruye la diferenciación de las células eritrocíticas y cambios requeridos. También el oncogen C-erb A se traduce durante el crecimiento de fibroblastos y eritroblastos (37,111) a una

proteína denominada *proC-erb A*. Esta proteína se reporta como un receptor para T3; ya que tienen propiedades fisicoquímicas similares. Es decir un péptido enlazado al DNA que activa la transcripción y que tiene 46,000 D de peso molecular y cuyo RNA es de 288 nucleótidos, rico en G+C (112); este receptor *in vitro* se une a T3. Este gen (*c-erb-A*) está localizado en el cromosoma 17, del humano.

Los receptores nucleares de T3 han sido muy estudiados en células GHI, una línea celular productora de hormona de crecimiento derivada de un tumor hipofisiario de rata. Las características de fijación de estos receptores de T3 son idénticas a las observadas en otros órganos (86).

Se sabe que los receptores de la hormona tiroidea interactúan específicamente con algunos lugares sobre el extremo 5' del DNA del gen *r GH* (gen para la hormona de crecimiento). La T3 actuará estimulando y activando la función transcripcional del receptor, mejor que por estimulación del DNA *per se* (36,95). De las células GHI (productoras de la hormona del crecimiento), se han encontrado dos formas de proteínas receptoras de T3. Una de ellas posee 47,000 D de PM (abundante) y otra de 57,000 Daltons (menos abundante). Estableciéndose que la de 57 K media la acción de T3 y que es precursor de la de 47 K (inactiva)(86).

Al digerir la cromatina con nucleasa de micrococcos o DNAasa 1 de los receptores de T3 pueden extraerse como una forma abundante de 6.5S y otra menos abundante de 12.5S. Después de la extracción con KCl 0.4M, el receptor aparece como una partícula de 3.8S. La forma 6.5S consiste probablemente en la proteína receptora 3.8S una porción de unión de DNA, posiblemente asociada a otras proteínas. (74,86).

El fragmento 12.5S puede representar la proteína receptora de T3 asociada con una partícula mononucleosómica.(86).

El análisis de la estructura y función de T3 sugiere que el anillo tirosilo de la hormona (*extrano*) y que los halógenos insertados en el C 3 y 5 así como el -OH (hidroxilo) que posee, están involucrados con el receptor; por lo que ese anillo es responsable de la actividad biológica de la hormona (9,24).

En cuanto a los receptores hormonales se refiere, se conocen las secuencias primarias de éstos para estrógenos, progesterona, glucocorticoides, aldosterona, ácido retinoico, 25-DHCC, Andrógenos y T3. Los receptores caen en 3 grandes familias: El grupo glucocorticoide, el de estrógenos y el no esteroide. En la tercer familia no esteroide se encuentran los receptores nucleares para T3, Ac. retinoico y 1, 25-DHCC. (7,9,43).

## 7.- RELACION DE T3 CON LOS ONCOGENES O CON EL CANCER.

### Introducción.

La búsqueda de las bases genéticas del cáncer ha marcado la identificación de un grupo de genes cuyos productos contribuyen directamente al crecimiento celular, diferenciación y desarrollo. Esos genes llamados protooncogenes (genes potenciales de expresión para ciertos cánceres), los más comunes son: c-erb, c-myc, c-src, c-ras, c-fos, c-jun. Estos protooncogenes parecen no ser tumorigénicos por sí mismos, pero algo debe activarlos por mutación y/o niveles anormales de expresión. Un avance importante fue el reconocimiento de que esos genes fueran clasificados como dominantes o recesivos dependiendo de la presencia o ausencia de su producto contribuyendo al desarrollo y progresión del tumor. (86)

Una gran variedad de experimentos han demostrado que dos oncogenes pueden ejercer un efecto sinérgico en la transformación celular. De hecho la capacidad de ejercer transformación de algunos oncogenes es manifestada solamente en presencia de otra entidad transformadora. Uno de ellos es v-erb A, encontrado en el virus de la eritroblastosis avian (AEV) el cual potencia fuertemente la actividad de transformación de un número de oncogenes tirosin-kinasas y de un número de oncogenes ras-relacionados. Ha sido sugerido que la expresión de v-erb A contribuye a la eritroleucemia por interferencia con la diferenciación programada de las células precursoras eritroides.

La similitud del producto oncogénico v-erb A al receptor glucocorticoide últimamente marca la identificación de su homólogo celular como el receptor de la hormona tiroidea. Ahora se reconoce la existencia de una superfamilia de receptores, incluyendo aquellos para hormonas esteroides, ácido retinoico, y vitamina D3, también como 2 subtipos (isoformas) de receptores de la hormona tiroidea, llamados alfa y beta. La comparación del análisis mutacional y

estructural de estos receptores hormonales, identifican dominios responsables para el enlace hormonal, enlace a DNA y trans-activación de la expresión genética. Así como los receptores esteroides, la activación transcripcional por los receptores de la hormona tiroidea es dependiente de la presencia y enlace del respectivo ligando. Pero el análisis de depleciones mostró que receptores de glucocorticoides, estrógenos y progesterona carecen de dominio de enlace hormonal aún reconociendo los elementos de respuesta específica y pueden funcionar como activadores constituidos. Así pues, ni el ligando por sí mismo, ni su dominio de enlace necesita la participación directa en el reconocimiento del DNA. (80).

#### 7.1 C-ERB Y ENFERMEDADES RELACIONADAS

#### 7.2 C-ERB EN CÁNCER DE SENO.

En varios estudios se reporta la presencia de c-erb B2 en cáncer de pecho (131,79,93,34,116).

Se han reportado niveles séricos de c-erb B2 en el suero de pacientes con cáncer de pecho utilizando anticuerpos monoclonales, detectándose en 0 de 69 pacientes control, 12 de 53 pacientes (23%) con cáncer de seno, 0 de 17 pacientes con enfermedades benignas, concluyendo que aproximadamente una cuarta parte de pacientes con cáncer de pecho local avanzado o metastásico presenta c-erb B2 (79).

En otro estudio se reporta una incidencia del 16% (25 de 161 pacientes) de cáncer primario de seno y 50% (3 de 6) de cáncer metastásico (A6,2) sin reportarse elevadas concentraciones en tumores benignos.

Por otra parte se reporta 16% de presencia en cáncer de seno nodo negativo y 19% en nodo positivo, y con la presencia de c-erb B2 estos pacientes

responden en menor grado a ciclofosfamida, metotrexato y fluoracilo que los cánceres normales (46).

En otro estudio evaluando carcinoma mamario in situ inmunohistoquímicamente 51 de 107 (48%) fueron inmunoreactivos a c-erb B2. Esto indica que la expresión inmunohistoquímica del protooncogene c-erb B2 tiene una relación muy cercana al subtipo histopatológico y el contenido de DNA nuclear de carcinoma mamario in situ (CIS). Ejemplos de CIS que son inmunoreactivos y DNA aneuploide parecen tener un significativo riesgo alto para el desarrollo subsecuente de infiltración de carcinoma mamario (116).

C-erb B2 inmunoreactivo no se encuentra en el parénquima normal de seno o en lesiones hiperplásicas benignas. Lo que indica que los tumores de seno genéticamente estables raramente expresan la proteína c-erb B2 durante la progresión, mientras que los neoplasmas genéticamente inestables frecuentemente muestran inmunoreactividad a c-erb B2 la cual se incrementa durante la progresión del tumor. (115)

La importancia diagnóstica de C-erb B2 radica en que éste puede ser un indicador pronóstico de los tipos de cáncer mamario I y II, esto permite identificar las subclases de pacientes con diferente pronóstico y permite una mejor selección para el tratamiento (34) de la misma manera que los factores de crecimiento EGF-r. Las mutaciones puntuales están en el gene p53 (113,132).

### 7.3. C-ERB B2 EN TUMORES TIROIDEOS.

La inmunoreacción producto de la proteína c-erb B2 y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-r o c-erb B1) fue al parecer de depósitos granulares o difusos en el citoplasma de las células foliculares en tiroides normal y células neoplásicas en todos los tumores, excepto para los resultados negativos en el inmunostado para EGF-B en tiroides normal. El tumor tiroideo

mostró una positividad altamente significativa que en tiroides normal, y el carcinoma tiroideo mostró una incidencia altamente significativa de casos positivos que del adenoma folicular, especialmente para C-erb B1. Estos resultados muestran que la proteína c-myc citoplasmática, la proteína c-erb B2 y EGF-R tiende a incrementarse considerablemente en carcinoma tiroideo. Además se sugiere que la p53 nuclear puede tener alguna relación con la diferenciación de los tumores tiroideos. (61)

#### 7.4. C-ERB B EN TUMORES PARATIROIDEOS

Se estudiaron 13 adenomas, 1 hiperplasia y 1 adenocarcinoma paratiroideo. 6 de 11 adenomas paratiroides (54.5%) revelaron que la expresión inmunohistoquímica del producto genético de C-erb B2 en la membrana celular y en el citoplasma. 3 adenomas (27.2%) mostraron un estado fuertemente positivo y los otros 3 adenomas (27.2%) mostraron un estado débilmente positivo. El protooncogene C-erb B2, el cual ha sido reportado que amplifica o expresa algunos adenocarcinomas, podría estar asociado con la iniciación y progresión de algunos adenomas paratiroides. Los presentes hallazgos sugieren que algunos adenomas paratiroides con c-erb B2 presente pueden tener un potencial maligno. (88).

#### 7.5. C-erb B en HIGADO

Al estudiar la inmunoreactividad de C-erb B2 se llegó a la siguiente conclusión: Los resultados indican que C-erb B2 puede ser un amplificador en neoplasias específicas, hepatitis B viral, y hepatitis C viral, postulando los autores que 1) La inmunoreactividad de c-erb B2 puede ser un marcador para la

transformación maligna en colangitis esclerosante primaria y 2) la sobreproducción de p 185erbB2 puede ser un epifenómeno de hepatitis B viral o infección viral de hepatitis C. (11).

#### 7.6. C-ERB B EN CÁNCER DE VÉJIGA.

Expectaciones recientes han llevado a que la realización de estudios biológicos moleculares de tumores humanos puedan ser de valor en la ayuda para predecir el comportamiento clínico en términos de respuesta terapéutica y supervivencia. El EGFR es un receptor de la superficie celular para EGF y transforma el factor de crecimiento alfa, el cual es sobreexpresado por un número de tumores humanos incluyendo tumores de vejiga en donde C-erb B2 juega un papel importante como marcador pronóstico de evolución de los pacientes (91).

#### 7.7. C-ERB EN ADENOCARCINOMA DE ESÓFAGO

Se estudiaron los protooncogenes c-erbB2 (Nes y CE-1) y CerbB2 (NCL-CBII), c-ras, c-src, c-myc, c-fos, c-jun. En 11 de 15 pacientes hubo sobreexpresión de c-erb B2 (neu) y c-erb B2 (CEL-CBII). La frecuencia de positividad de c-erb B2 es muy alta comparada con la expresión de esos genes en otros tumores. Además se concluye que errores en el que el oncosupresor p53 y especialmente los dominios internos y externos de c-erb B2, el cual además ocasionalmente se expresa en la mucosa de Barrett pueden estar fuertemente implicados en el desarrollo de adenocarcinoma de esófago. (56).

#### 7.8. C-ERB B2 EN CARCINOMA CERVICO UTERINO.

En un estudio de 62 pacientes con carcinoma cérvico uterino 38.7% de los casos tuvieron una fuerte presencia de c-erb B2, además asociado a un pobre pronóstico de vida, sobretudo en carcinoma escamoso y adenocarcinoso, y la asociación con metástasis del nódulo linfático; esto corrobora la idea de la utilización de c-erb B2 como marcador pronóstico y coadyuvante a la identificación de aquellas pacientes en quienes la detección temprana puede ser benéfica en el tratamiento. (48).

#### 7.9. C-ERB Y TUMORES MALIGNOS EN EL SNC.

Mutaciones puntuales en el dominio de la transmembrana del gene c-erb B2 en el cerebro humano fueron estudiados por amplificación del DNA. Se estudiaron 70 tumores humanos malignos y 3 tumores benignos del SNC y una placenta humana normal. En tejidos malignos, mutación Val a Glu que reduce actividad transformadora por C-erb B2 no aparece en codón 659 de c-erb B2. En tejidos malignos, algunas otras mutaciones aparecieron con menor frecuencia, tanto en el codón 659 u otras posiciones del dominio de la transmembrana de c-erb B2. La proporción de genes mutados no fue observada en tumor de cerebro benigno o en tejidos de placenta humana normal. El dominio de transmembrana de c-erb B2 puede tener algunos puntos mutables, mientras los tumores de cerebro muestran una predilección por la mutación puntual. (58).

## 8.- DISCUSION

A partir de los 90's se comienza a asociar a un receptor de la hormona tiroidea con algunos tipos de cáncer.

Se sabe que las hormonas tiroideas aceleran la síntesis de proteínas e incrementan el consumo de oxígeno por las células blanco. La tiroxina activa enzimas oxidativas y acelera el ciclo del ácido tricarbólico en las mitocondrias. El ARNm inducido dicta la síntesis de proteínas que median la mayor parte de las hormonas tiroideas.

Las hormonas tiroideas potencian la función celular de la bomba  $\text{Na}^+\text{K}^+$  ATPasa al incrementar el número de unidades de bombeo. Puesto que todas las células tienen esta bomba y virtualmente todas responden a las hormonas tiroideas, esta potencialización en la utilización del ATP y el incremento relacionado al consumo de oxígeno vía la fosforilación oxidativa, pudiera ser el mecanismo de acción básico de la hormona tiroidea (7). En la actualidad la función básica más probable de la hormona tiroidea es su capacidad para activar el proceso de transcripción de DNA en el núcleo celular, con la consiguiente formación de muchas nuevas proteínas celulares. V-erb A puede ser el primer ejemplo de un protooncogen dominante negativo al impedir que la hormona tiroidea se una al receptor y tener efecto sinérgico en la transformación celular. El punto más importante es la homología del oncogen V-erb A y C-erb A con el receptor de la hormona tiroidea.

Por otra parte el oncogen V-erb A y c-erb A, sus proteínas poseen propiedades bioquímicas semejantes o similares a los receptores nucleares de T3.

La mayoría de las acciones de la hormona tiroidea son mediadas por receptores nucleares, éstos receptores nucleares reconocen secuencias

específicas de DNA (elementos de respuesta de 13) en la región promotora del gene, se consideran tres propiedades

- 1) Sitio de acción nuclear
- 2) Secuencia específica de reconocimiento de DNA
- 3) Habilidad para regular la transcripción genética.

La superfamilia de receptores hormonales esteroides/tiroideos tienen mucha similitud en los dominios de enlace hormonal, sobretodo en los dominios de enlace de DNA (DBD). La presencia de este DBD motivó la presencia de una proteína nuclear codificada por el oncogene V-erb A derivada del virus de la eritroblastosis avian (31-33).

Los homólogos celulares de ésta oncoproteína retroviral, c-erb A similarmente contienen un DBD característico de los receptores hormonales pero un muy diferente HBD.

TRalfa2 (V-erb A) puede enlazar a DNA como monómero y heterodímero despreciando su inhabilidad para formar heterodímeros estables, además de que el C'terminal ha sido descrito tener un efecto tanto estimulador como inhibidor en la homodimerización. Otra de las posibilidades es la de mutaciones puntuales en el HBD de TRbeta.

Los genes codificando subunidad alfa y beta, los TRβs están cerca del sitio de comienzo de transcripción sugiriendo que ellos pueden actuar por interferencia con montaje o precesión del complejo de transcripción basal y en este punto es muy importante la orientación para que se pueda llevar a cabo.

El protooncogene c-erb beta2 tiene mutación de Val a Glu en codón 659 el cual induce la actividad transformadora. La utilidad práctica de la presente tesis es que demuestra que cuando hay presencia de c-erb B2 el pronostico del cáncer es maligno, por lo que su descubrimiento oportuno dará oportunidad de sobrevivencia.

## 9.- CONCLUSIONES

De alguna manera existe una alteración entre los receptores de la hormona tiroidea y los protooncogenes, los cuales se pueden activar a través de mutaciones puntuales u otros factores no establecidos con certeza en la actualidad.

Es importante la comparación del análisis mutacional y estructural de los receptores hormonales y c-erb beta2 identificando dominios responsables para dicho enlace a DNA y transactivación de la expresión genética.

C-erb beta2 ha mostrado su presencia en al menos 50% de las enfermedades neoplásicas malignas.

C-erb beta 2 puede ser un marcador de la malignidad del tumor y de la progresión terapéutica, considero que en el futuro será un marcador importante clínico en la evolución de las neoplasias malignas.

A través de la presente tesis se han podido conocer los procesos celulares a través de los cuales la triyodotironina regula el metabolismo de sus células blanco, fundamentalmente a nivel de receptores.

## 9.- CONCLUSIONES

De alguna manera existe una alteración entre los receptores de la hormona tiroidea y los protooncogenes, los cuales se pueden activar a través de mutaciones puntuales u otros factores no establecidos con certeza en la actualidad.

Es importante la comparación del análisis mutacional y estructural de los receptores hormonales y c-erb beta2 identificando dominios responsables para dicho enlace a DNA y transactivación de la expresión genética.

C-erb beta2 ha mostrado su presencia en al menos 50% de las enfermedades neoplásicas malignas.

C-erb beta 2 puede ser un marcador de la malignidad del tumor y de la progresión terapéutica, considero que en el futuro será un marcador importante clínico en la evolución de las neoplasias malignas.

A través de la presente tesis se han podido conocer los procesos celulares a través de los cuales la triyodotironina regula el metabolismo de sus células blanco, fundamentalmente a nivel de receptores.

## 10.- GLOSARIO

**Cáncer.** Tumor maligno en general y especialmente el formado por células epiteliales. La característica básica de la malignidad es una anomalía de las células, transmitida a las células hijas, que se manifiesta por la reducción del control de crecimiento y la función celular, a través de un crecimiento masivo, invasión de los tejidos vecinos y metástasis. Se dividen en Carcinoma y Sarcoma.

**Mutación.** Cambio, muda, variación. En genética cualquiera de las alteraciones producidas en la estructura o en el número de los genes o de los cromosomas de un organismo vivo, que se transmiten a los descendientes por herencia. **Somática.** Mutación que se desarrolla en las células somáticas en vez de producirse en las que forman los gametos.

**Oncogene.** Gen o grupo de genes cuya expresión anómala determina la producción de un fenotipo maligno. La capacidad carcinogénica de los oncogenes está determinada por la expresión de factores proteicos y específicos que regulan los mecanismos de crecimiento, diferenciación y reparación celular.

**Protooncogenes.** Genes potenciales de expresión para ciertos cánceres, los más comunes son: c-myc, c-src, c-ras, c-fos, c-jun y últimamente c-erb.

**Tiroides.** Órgano rojizo situado en la parte anterior e inferior de la laringe, formado por dos lóbulos ovoideos reunidos por un istmo del que se desprende a veces un lóbulo intermedio o pirámide de Lalouette. Glándula de secreción interna y está constituida por vesículas cerradas llenas de materia coloidal en el seno de un tejido conjuntivo y rodeadas de un red vascular.

**Tiroxina.** Compuesto cristalino de la glándula tiroides, derivado tetrayodado de la hidroxifeniltirosina. En el organismo su actividad hormonal cumple un papel importante en el mantenimiento de un nivel óptimo en el metabolismo oxidativo y en la producción corporal de calor, así como una función primordial en los procesos de organización y maduración de diversos sistemas.

**Triyodotironina. (T3)** Producto hormonal de la glándula tiroides y de la degradación periférica de la tiroxina. Compuesto triyodado de la hidroxifeniltirosina, biológicamente más activo que la tiroxina.

**V-erb A.** Virus de la eritroblastosis Avian. Contribuye a la eritroleucemia por interferencia con la diferenciación programada de las células precursoras eritroides.

## 11.- REFERENCIAS

- 1.- Atterwill C, Brown C. (1987). Studies on the Effects of omeprazole on thyroid function in the Rat. *J. pharm Pharmacol.* 41: 733-735.
- 2.- Baker P.M, Brown M. J. (1988). The Effect of thyroidectomy in the fetal sheep on lung liquid reabsorption induced by adrenaline or cyclic Amp. *Journal of Physiology.* 407: 373-383.
- 3.- Baumann E. (1895). Uber das normale Vorkommen von Jod im Thierkorper. *Physiol Chem* 21: 319.
- 4.- Beato M. (1989). Gene regulation by steroid hormones. *Cell* 56:335-344.
- 5.- Beet Jhon (1991). Thyroxine and 3',5'-triiodothyronine are glucuronidated in rat liver by Different Uridine diphosphate-glucucuronyltransferases. *Endocrinology.* 128:2 741-746.
- 6.- Berger Sheldon. (1987). Prueba de la Función Tiroidea. *Endocrinología parte II.* s/v 607-623.
- 7.- Bergman Donala A. (1990). *Thyroid Physiology and Immunology.* Otolaryngologic Clinics of north America. 23:2 231-249.
- 8.- Blanco C. et al. (1987). Nuclear 3,4,3'-triiodothyronine (T3) in brown adipose Tissue: Receptor occupancy and sources of T3 As determined by in vivo Techniques. *Endocrinology:* 12:1 55-62.
- 9.- Bolander Franklin F. (1989). *Molecular Endocrinology.* Academic Press Inc. nited Stated of America 36-40.
- 10.-Boothroyd C.V. (1991). Single base mutation in the hormone binding domain of the thyroid hormone receptor beta gene in generalised thyrod hormone resistance demonstrated by single stranded conformation polymorphism analysis. *Biochem-biophys Res Commun.* 178:2 606-612.
- 11.- Brunt E.M. (1992). Immunoreactivity for c-erbB-2 oncoprotein in benign and malignant diseases of the liver. *Am J. Clin Pathol.* 97:1 53-61.
- 12.- Buderkerke E. (1983). *Elementos de Bioquímica.* Omega S.A. España 332-337.
- 13.- Callahan R; Cropp CS; Merlo GR. Somatic mutations and human breast cancer: A status report. *Cancer* 69:6 1582-8.
- 14.- Carson-Jurica MA, Schrader WT, O'Malley EW. (1990). Steroid receptor family: structure and function. *Endocr Rev* 11:201-220.
- 15.- Casanova J, Copp RP, Janocko L, Samuels HH (1985). 5'-flanking DNA of the rat growth hormone gene mediates regulated expression by thyrod hormone. *J. Biol Chem* 260: 11744-11748.
- 16.- Casanova J, Horowitz ZD, Coop RP. (1984) Photoaffnity labeling of thyroid hormone nuclear receptors. Influence of n-butyrate and analysis of the half-lives of the 57,000 and 47,000 molecular nuclear weight forms. *J Biol Chem* 259:12084-12091.
- 17.- Chopra IJ. (1974). A radioimmunoassay for measurement of reverse rT3. *J Clin Invest* 54:583.
- 18.- Cook CB, Kakucska I, Lechan FM. (1992) Expression of thyroid hormone receptor E2 in rat hypothalamus. *Endocrinology* 130: 1077-1079.
- 19.- Cooper AP. (1936). Notes on the structure of the thyroid gland. *Guys Hosp Rep* 1:448.
- 20.- Cowper W. (1968). *The anatomy of Humane Bodies.* London Oxford University Press. 37
- 21.- Danforth E, Tyzbit ED. (1976).Reciprocal changes in serum triiodothyronine (T3) and rT3 induced by altering the carbohydrate of the diet. *Clin Res* 24:271.

- 22.- Dauncey M, Kamada T.(1990) Short Term Influence of 3,3',3'-triiodothyronine Infusion Restin Metabolic Rate of the Young Pig.Horm Meta Res. 22: 374-377.
- 23.- Davis KD, Lazar MA.(1992) Selective antagonism of Thyroid hormone action by retinoic acid. J. Biol Chem 267:3185-3189.
- 24.- Ekholm Ragnar 1990. Biosynthesis of thyroid hormones. International Review of Citol. 120:243-281.
- 25.- Eustachius B.(1936) Health and Disease. London Oxford University Press p. 152.
- 26.- Evans RM (1988) The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. Science 240:889-895.
- 27.- Evans RM, Hollenberg S(1988) Zinc Fingers: gilt by association. Cell 52:1-3.
- 28.- Felicetta James. (1989) Effects of Illnes on Thyroid Function Tests. Postgraduate Medicine. 85
- 29.- Forman EM, Yang C, Au M.(1989) A Domain containing a leucine-zipper-like motif mediates novel in vivo interactions between the thyroid hormone and retinoic acid receptors. Mol Endocrinol 3:1610-1626.
- 30.- Forman EM, Yang CR. (1988) C-erbA protooncogenes mediate thyroid hormone-dependent and independent regulation of the growth hormone and prolactin genes. Mol Endocrinol 2:902-911.
- 31.- Forrest D, Sjoberg M. 1990. Contrasting developmental and tissue-specific expression of alfa and beta thyroid hormone receptor genes. EMBO 9:1519-1528.
- 32.- Fujita Hisao. 1968. Functional Morphology of the Thyroid. International Review of ctology. 113:145-148.
- 33.- Ganong FW. 1988. Fisiologia médica. El manual moderno 341-353.
- 34.- Gasparini G, Gullick WJ, Bevilacqua. 1992. Human Breast cancer: prognostic significance of c-erbB-2. J Clin Oncol. 10(5):686-95.
- 35.- Gavin L. Rapoport B. 1976. Variable serum reverse (rT3) and decreased T3 concentrations in non-thyroidal systemic illness. Clin Res 24:272.
- 36.- G. Damiano, S. Arun. 1987. Triiodothyronine binding in adult rat Brain. Endocrinology 12:1 325-331.
- 37.- Geary B and Privalsky M. (1990). Sequence Specific DNA Binding by the V-erb A oncogene protein of avian erythroblastosis Virus. J Virol 64:3 1314-20.
- 38.- Ghysdael J, Beug H. 1992. The Leukaemia oncogene v-erbA: A dominant negative version of ligand dependent transcription factors that regulates red cell differentiation?. Can Surv 14:169-80.
- 39.- Glass CK, Franco R. 1987. A c-erbA site n the rat growth hormone gene mediates trans-activation by thyrod hormone. Natre 329:738-741.
- 40.- Gley E, Bourcet P. 1891. Sur les fonctions du corps thyroide. CR Soc Biol 43:841.
- 41.- Gley E. Borcet P. 1900. Presence de Liode dans le sang. C.R. Acad Sci 130:1721.
- 42.- Graf T, Beug H. 1983. Role of v-erbA and v-erbB oncogenes of avian erythroblastosis virus in erythroid cell transformation. Cell 34:7-9.
- 43.- Graupner Ger Hart. 1989. Dual Regulatory role for thyroid hormone receptors allows control of retinoic acid receptor activity. Nature 340:653-656.
- 44.- Green S, Chambon P. 1986. A sperfamily of potentially oncogenic hormone receptors. Nature 324:615-617.
- 45.- Gross J. Pitt-Rivers Triiodothyronine in relation to thyroid physiology. Recent Prog Horm Res. 10:109. 1954.
- 46.- Gusterson BA, Gelber RD. 1992. Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. J Clin Oncol 10(7):1049-56.
- 47.- Guyton AC. 1983 Fisiologia Hmana. Interamericana 416-427.

- 48.- Hale RJ, Buckley CH. 1992. Prognostic value of c-erbB2 expression in uterine cervical carcinoma. *J Clin Pathol*. 45(7):594-6.
- 49.- Harington CR. Chemistry of thyroxine. 1926 Isolation of thyroxine from the thyroid gland. *Biochem J* 20:293.
- 50.- Harington CR, Barger G. 1927. Chemistry and physiology. *Biochem J* 21:169.
- 51.- Hermann T, Hoffmann B. 1992. Heterodimeric receptor complexes determine 3,5,3'-triiodothyronine and retinoid signaling specificities. *Mol Endocrinol* 6:1153-1162.
- 52.- Hisao Fujita. 1988. Functional morphology of thyroid. *Review of Citol.* 113:145-181.
- 53.- Hodin RA, Lazar MA. 1989. Identification of a thyroid hormone receptor that is pituitary-specific. *Science* 244:76-79.
- 54.- Horsley VA. 1885. On the function of the thyroid gland. *Proc R Soc Lond (Biol)* 33:5.
- 55.- Hossay 1986. *Fisiologia Humana*. Ed. el ateneo. Mexico 532-555.
- 56.- Jankowski J, Coghill G. 1992. Oncogenes and onco-suppressor gene in adenocarcinoma of the esophagus. *Gut* 33(8):1033-8.
- 57.- Jones KE, Chin WW. 1991. Differential regulation of thyroid hormone receptor messenger ribonucleic acid levels by thyrotropin releasing hormone. *Endocrinology* 128:1763-1768.
- 58.- Kamitani H, Mariyama M. 1992. Mutations in transmembrane domain of c-erbB2 gene in human malignant tumors of the nervous central system.
- 59.- Kanamori A, Brown DD. 1992. The regulation of thyroid hormone receptor beta genes by thyroid hormone in *Xenopus laevis*. *J. Biol Chem* 267:739-45.
- 60.- Kaplan M. 1985. Valoración Clínica y de laboratorio de anomalías tiroideas. *Clinicas médicas de norteamérica*. 5:905-921.
- 61.- Kashima K, Yokoyama S. Immunohistochemical study on expression of c-myc, p53, c-erbB2 in human thyroid tumors. *Acta Histo Cytoch.* 1991. 24:563-70.
- 62.- Katz D, Berrodin TJ. 1992. The thyroid hormone receptor variant c-erbA $\alpha$ 2, and the thyroid hormone receptor  $\alpha$ 1 have different DNA-binding and heterodimerization properties. *Mol Endocrinol* 6:805-14.
- 63.- Kendall EC. 1915. The isolation in crystalline form of the compound containing iodine which occurs in the thyroid. *Trans Assoc Am Phys.* 30:420.
- 64.- Killman WH. 1986. Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas. *Clinicas médicas de norteamérica*. Ed. Enalsa, S.A. España 120:243-281.
- 65.- King TW. 1836. Observations on the thyroid gland. *Guys Hosp Rep* 1:429.
- 66.- Klaus D., Thompson C. 1989. Protein Encoded by V-erb-A Functions as a Thyroid Hormone Receptor Antagonist. *Nature* 339:593-597.
- 67.- Kocher T. 1883. Ueber kropfextirpation und ihre Folgen. *Arch Klin Chir* 29:254.
- 68.- Khorle J, Fasnussen U. 1990. Affinity Kidney type I 5'-Deiodinase. *The journal of biological Chemistry*. 265:11 6155-6163.
- 69.- Koenig RJ, Lazar MA, Hodin RA, Brent GA, Larsen FR. 1989. Inhibition of thyroid hormone action by a non-hormone binding c-erbA protein generated by alternative mRNA splicing. *Nature* 337:659-661.
- 70.- Koenig RJ, Warner RL, Brent GA, Harney JW, Larsen FR, Moore DD. 1988. Isolation of cDNA clone encoding a biologically active thyroid hormone receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:5031-35.
- 71.- Labato M, Briggs RT. 1985. Cytochemical Localization of Hydrogen Peroxide Generating Sites in the Rat Thyroid Glands. *Tissue I Cell* 17:6 889-900.
- 72.- Lamas L, Anderson P. 1989. Consensus Sequences for Early Iodination and Hormone Genesis in Human Thyroglobulin. *The Journal of Biological Chemistry* 64:23 13541-13545.

- 73.- Lane JT, Gadbole M, Strail FA, Schwartz HL, Oppenheimer JH. 1991 Prolonged fasting reduces rat hepatic B1 thyroid hormone receptor protein without changing the level of its messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 129:2881-2885.
- 74.- Lavin T, Baxter JD. 1988. The Thyroid Hormone receptor Binds to Multiple Domains of the Rat Growth Hormone 5'-Flanking Sequence. *The Journal of Biological Chemistry*. 263:19 9418-9426.
- 75.- Lazar MA, Berrodin TJ. 1990. Thyroid hormone receptors form distinct nuclear proteins-dependent and independent complexes with a thyroid hormone response element. *Mol Endocrinol* 4:1627-1635.
- 76.- Lazar MA, Hodin RA, Darling DS, Chin WJ. 1989. A novel member of the Thyroid/steroid hormone receptor family is encoded by the opposite strand of the rat c-erbA transcriptional unit. *Mol Cell Biol* 9:1128-1136.
- 77.- Leger J, Forrest M. 1990. Thyroid action in receptors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 71:5 1147-1149.
- 78.- Leidig F, Shepard AR, Zhang W, Stelzer A, Cattini PA, Baxter JD, Eberhart NL. 1992. Thyroid hormone responsiveness in human growth hormone-related genes. *J Biol Chem*. 267:913-921.
- 79.- Leitzel K; Teramoto Y, Sampson E, Mauceri J, Langton EC. 1992. Elevated soluble c-erbB-2 antigen levels in the serum and effusions of a proportion of breast cancer patients. *J Clin Oncol* 10:9 1536-43.
- 80.- Lemoine NR, Hall PA. 1990. Growth factors and oncogenes in pancreatic cancer. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 4:4 815-832.
- 81.- Maisteriano J. 1988. Padecimientos por la deficiencia de Iodo. *Realidades Nutrición* 11:1 33-43.
- 82.- Martin WD, Mayes AP. 1988. *Bioquímica de Harper. El Manual Moderno SA México* 246-247, 4822-497.
- 83.- McCallum WG. 1909. On the relation of tetany to the parathyroid glands and to calcium metabolism. *J. Exp Med*. 11:118.
- 84.- Meuli J. Zur Function der Schilddrüse. Eine experimentellphysiologische Studie. *Pfuegers Arch* 33:378. 1884.
- 85.- Mitsuhashi TB, Tennyson GE, Nikodem VM. 1988. Alternative splicing generates messages encoding rat c-erbA proteins that do not bind thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:5804-5808.
- 86.- Morris J, Ranganathan A. 1988. The Effects of transforming growth factor B on Growth and Differentiation of the continuous Rat Thyroid Follicular Cell Line Fril-5. *Endocrinology* 123:3 13, 85-1394.
- 87.- Munroe SH, Lazar MA. 1991. Inhibition of c-erbA mRNA splicing by a naturally occurring antisense RNA. *J Biol Chem* 266:22063-22066.
- 88.- Moriyama N, Higashihara E, Ueki T. 1992. Amplification of c-erbB2 proto-oncogene and immunohistochemical expression of c-erb B2 gene product in parathyroid tumors.
- 89.- Nakai A, Sakurai A, Bell GI, de Groot LJ. 1988. Characterization of a third human thyroid hormone receptor coexpressed with other thyroid hormone receptors in several tissues. *Mol Endocrinol* 2:1087-1092.
- 90.- Nassi P, Liguri G. 1990. Increased Acyl-phosphatase levels in erythrocytes, muscle and liver of triiodothyronine treated rabbits. *Horm Metabol. Res* 22 33-37.
- 91.- Neal DE, Mellon K. 1992. Epidermal growth factor receptor and bladder cancer: A review. *Urol-Int*. 48(4) 365-71.
- 92.- Nicod P, Burger E. A radioimmunoassay for T3 in unextracted serum: Methods and clinical results. *Med Chir Trans* 61:57 1878.
- 93.- Nugent A, McDermott E, Duffy K. 1992. Enzyme-linked immunosorbent assay of c-erbB2 oncoprotein in breast cancer. *Clin Chem* 38:6 1471-4

- 94.- O'Malley B 1990. The steroid receptor superfamily: more excitement predicted for the future. *Mol Endocrinol* 4:363-369.
- 95.- Oppenheimer J. 1985. Thyroid action at the nuclear level. *Ann Intern Med* 102:374.
- 96.- Oppenheimer JH, Koerner K, Schwartz HL, Surks MI, 1972. Specific nuclear triiodothyronine binding sites in rat liver and kidney. *J Clin Endocrinol Metab* 35:330-333.
- 97.- Oppenheimer JH, Schwartz HL, Surks MI. 1974. Tissue differences in the concentration of triiodothyronine nuclear binding studies in the rat: liver, kidney, pituitary, heart, brain, spleen and testis. *Endocrinology* 95:697-903.
- 98.- Orten M. and Neuhaus W. 1984. *Bioquímica humana, Medica Panamericana, Argentina* 631-636.
- 99.- Oswald A. 1899. Die Eiweisskörper der Schilddrüse. *Z Physiol Chem* 27:14.
- 100.- Falumbo G, Gentile F. 1990. The earliest site of iodination on Thyroglobulin is residue number 5. *J Biol Chem* 265:15 8887-8892.
- 101.- Parry Ch. 1825. Collections from the Unpublished Papers of the Late Caleb Hilliel Parry, vol 2:111. London.
- 102.- Pecoç-Reck P., Sonio M., Ferreira M. 1985. Decreased Receptor Binding of Biologically Inactive Thyrotropin in Central Hypothyroidism. *The New England Journal of Medicine*. 312:17,1085-1090.
- 103.- Phillips D.I.W., Lazarus J. 1988. Iodine Metabolism and the Thyroid. *Journal of Endocrinology*. 119:361-363.
- 104.- Prost E., Koeng R.J., Moore DD., Larsen P.R., Whalen R.G. 1988. Multiple sequences encoding potential thyroid hormone receptors isolated from mouse skeletal muscle cDNA libraries. *Nucleic Acids Res* 16:6248.
- 105.- Rentounis A., Chatterjee VKK, Madison L.D., Datta S., Gallagher G.D., de Groot L.J., Jameson J.L. 1990. Negative and positive transcriptional regulation by thyroid hormone receptor isoforms. *Mol Endocrinol* 4:1522-1531.
- 106.- Reverdin J.L. Reverdin A. 1883. Note Sur vingtdeux operations de goitre. *Rev Med Suisse Romande* 3:169,233,309.
- 107.- Ribeiro RCJ., Kushner FJ., Apriletti J.W., West B.L., Baxter J.D., 1992. Thyroid hormone alters in vitro DNA binding of monomers and dimers of thyroid hormone receptors. *Mol Endocrinol*. 6:1142-1152.
- 108.- Roli E., Minelli R., 1990. Iodine-Induced Hypothyroidism in Euthyroid Subjects with a Previous Episode of Subacute Thyroiditis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 70:6 1581-1585.
- 109.- Rolleston H.D. 1936. *The Endocrine Organs, in Health and Disease*. London Oxford University Press. 68-70.
- 110.- Samuels H.H., Tsai J.S., Casanova J., Stanley F. 1974. Thyroid Hormone Action: in vitro characterization of solubilized nuclear receptors from rat liver and cultured GH1 cells. *J. Clin Invest* 54:853-865.
- 111.- Sap J., Muñoz A., 1987. The C-erb-A Protein is a High-Affinity Receptor for Thyroid Hormone. *Nature* 324:18. 635-640.
- 112.- Sap J., Muñoz A. 1989. Repression of Transcription mediated at a Thyroid Hormone Response Element by the V-erb-A Oncogene Product. *Nature* 240:20. 242-244.
- 113.- Sap Jan., Muñoz A., Dann K. 1986. The C-erb-A protein is a High-affinity receptor for thyroid hormone. *Nature* 324:18 635-640.
- 114.- Sattler H. 1952. *Basedow's Disease*. (English translation by Marchand GW and Marchand JF= New York, Grune and Stratton.
- 115.- Schimmelpenninck H., Eriksson ET., Falkner UG., Azavedo E., Svane G. 1992. Expression of the c-erbB-2 proto-oncogene product and nuclear DNA content in benign and malignant human breast parenchyma. *Virchows-Arch-A-Pathol-Anat-Histol.* 420(5); 433-40.

- 116.- Schimmelpenninck H., Eriksson ET., Pallis., Skoog L. 1992. Immunohistochemical c-erbB-2 proto-oncogene expression and nuclear DNA content in human mammary carcinoma in situ. *Am. J. Clin. Pathol.* 97(5-1); 548-52.
- 117.- Senon F. 1936. In Rolleston HD. Health and Disease. London, Oxford University Press.
- 118.- Silbergli F. and Sesopoulus (1985). Atlas de Fisiologia Cientifica. FLM S.A. México 212-222, 230-236.
- 119.- Silva E., Astier H., Thakare U., Schwartz H.L., Oppenheimer J.H., 1977. Partial purification of the triiodothyronine receptor from rat liver nuclei: differences in the chromatographic mobility of occupied and unoccupied sites. *J. Biol Chem* 252:6799-6905.
- 120.- Sjoberg M., Vennstrom B., Forrest D. 1992. Thyroid hormone receptors in chick retinal development: differential expression of mRNAs for alpha and N-terminal variant beta receptors. *Development* 114:39-47.
- 121.- Smith J. Terry and Diamond S. George. 1988. Thyroid Hormone regulation of Heme Synthesis in Rat Liver. *Endocrinology* 122(5), 1964-1967.
- 122.- Stanley F., Samuels H.H., 1984. n-butyrate effects thyroid hormone stimulation of prolactin production and mRNA levels in CH1 cells, *J Biol Chem* 259:9768-9775.
- 123.- Stoffer S. and Szpunar W. 1988. Thyroid Disease in the Elderly. 84:6 133-138.
- 124.- Strait K.A., Schwartz H.L., Pérez Castillo A., Oppenheimer J.H. 1990. Relationship of c-erbA mRNA content to tissue triiodothyronine nuclear binding capacity and function in developing and adult rats. *J Biol Chem* 265:10514-10521.
- 125.- Thompson C.C., Evans R.M., 1989. Trans-activation by thyroid hormone receptors: functional parallels with steroid hormone receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:3494-3498.
- 126.- Thompson C.C., Weinberger C., Lebo R., Evans R.M. 1987. Identification of a novel thyroid hormone receptor expressed in the mammalian central nervous system. *Science* 237:1610-1614.
- 127.- Thompson J. 1970. Historical Notes. In Smithers D. Tumors of the Thyroid, vol 6, Neoplastic Diseases at various sites. Edinburgh, Livingstone (Ltd).
- 128.- Thompson K.L., Santon J.B., Shepard L.B., Walton G.M., Gill G.N. 1992. A nuclear protein is required for thyroid hormone receptor binding to an inhibitory half-site in the epidermal growth factor receptor promoter. *Mol Endocrinol* 6:627-635.
- 129.- Toyoshima K. 1990. Proto-oncogene C-erbB-2 and human cancer. *Gan-To-Kagaku-Ryoho.* 17(3); 309-314.
- 130.- Tran P., Zhang X K., Salbert G., Hermann T., Lehmann J.M., Pfahl M. 1992. ODP orphan receptors are negative regulators of retinoic acid response pathways. *Mol Cell Biol* 12:4666-4676.
- 131.- Tsuda H., Hirohashi S., Hirota T., Shimosato Y. 1991. Alterations in copy number of c-erbB-2 and c-myc proto-oncogenes in advanced stage of human breast cancer. *Acta Pathol Jpn* 41(1) 19-23.
- 132.- Uekita Y., Enokizono N., Sagara Y. 1992. Immunohistochemical studies on oncogene products (EGF-R, c-erbB-2) and growth factors (EGF, TGF-Alpha) in human breast cancer: their relationship to oestrogen receptor status, histological grade, mitotic index and nodal status. *Virchows Arch A Pathol Anat Hispathol* 420(4), 345-351.
- 133.- Unesono K., Murakami KK., Thompson C.C., Evans R.M. 1991. Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D3 receptors. *Cell* 65:1255-1266.

- 134.- Vassale G., Generali F. Sur les effets de l'extirpation des glandes parathyroïdiennes. Arch Ital Biol 26:61. 1896-97.
- 135.- Vercelloni J. De glandulis oesophagi conglomeratis humore vero digestivo et vernibus dissertatio. Typ. JB de Zagrandis, 1711 (273 p. Sm. 4o).
- 136.- Wahlstrom G.M., Sjoberg M., Anderson M., Nordstrom K. 1992. Binding characteristics of the thyroid hormone receptor homo- and heterodimers binding to the consensus AGGTCA repeat motif. Mol Endocrinol 6:1013-1022.
- 137.- Weinberger C., Thompson C.C., Ong E.S., Lebo R., Gruol D.J., Evans R. M. 1986. The c-erbA gene encodes a thyroid hormone receptor. Nature 324:641-646.
- 138.- Welsh DA., 1898. On the parathyroid glands of the cat. A preliminary study in experimental pathology. J. Pathol 5:202.
- 139.- West J. 1990. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica., Médica Panamericana Argentina. 1020-1030.
- 140.- Wondisford FE., Farr E.A., Radovick S., Steinfelder H.J. 1989. Thyroid hormone inhibition of human thyrotropin B-subunit gene expression is mediated by a cis-acting element located in the first exon. J. Biol Chem 264:14601-14604.
- 141.- Wood W.M., Ocran K.W., Gordon D.F. 1991 Isolation and characterization of mouse complementary DNAs encoding alpha and beta thyroid hormone receptors from thyrotrope cells; the mouse pituitary-specific B2 isoform differs at the amino terminus from the corresponding species from rat pituitary tumor cells. Mol Endocrinol 5:1049-1061.
- 142.- Warren J., 1949. Sodium levo thyroxine. Journal Chem Soc 3424-3432.
- 143.- Yaoita Y., Brown D.D. 1990. A correlation of thyroid hormone receptor gene expression with amphibian metamorphosis. Genes Dev. 4:1917-1924.
- 144.- Yaoita Y., Shi Y B. 1990 Xenopus laevis alpha and beta thyroid hormone receptors. Proc. Natl Acad Sci USA 87:7090-7094.
- 145.- Zhang X. K., Wills K.N., Husmann M., Hermann T., Pfahl M. 1991. Novel pathway for thyroid hormone receptor action through interaction with jun and fos oncogene activites. Mol Cell Biol 11:6016-6025.