

SYMPOSIUM: TIROIDES

Hormonas tiroideas y sistema nervioso central

J. Bernal

Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols. Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Universidad Autónoma de Madrid.

(*An Esp Pediatr* 2002; 56 [Supl 4]: 38-41)

INTRODUCCIÓN

Las hormonas tiroideas intervienen de forma crítica en el desarrollo del sistema nervioso central (SNC)¹. El hipotiroidismo fetal y/o neonatal ocasiona defectos de mielinización, y de migración y diferenciación neuronal, que originan el retraso mental, que puede ser profundo, y en determinados casos a alteraciones neurológicas irreversibles. Se acepta que la mayoría de las acciones de las hormonas tiroideas son debidas a la interacción de la hormona tiroidea activa, triyodotironina (T₃), con receptores nucleares. La hormona tiroidea regula la expresión de una serie de genes que codifican proteínas de funciones fisiológicas muy diversas: proteínas de mielina, proteínas implicadas en adhesión y migración celular, proteínas de señalización, componentes del citoesqueleto, proteínas mitocondriales, factores de transcripción, etc.¹.

La T₃ se origina parcialmente en la glándula tiroides, pero en su mayor parte se genera localmente en tejidos diana a partir de tiroxina (T₄). La concentración de T₃ en el SNC está estrechamente regulada por las desyodasas tipos II y III². La desyodasa tipo II, que se expresa en tanicitos y en astrocitos³, produce hasta un 80% de la T₃ presente en el SNC. La desyodasa tipo III, presente en neuronas, degrada T₄ y T₃ a metabolitos inactivos^{2,4}.

Los receptores T₃ están ya presentes en el cerebro fetal de rata, en el ARNm, a partir del día 11,5 después de la concepción⁵, y la proteína puede ser detectada ya en el feto de 14 días⁶. En el feto humano, el receptor T₃ está presente al menos desde la 10.^a semana de gestación⁷, lo que indica que la hormona tiroidea puede tener acciones en el cerebro fetal humano. Desde luego, en los tejidos de feto humano puede detectarse T₄ en la mayoría de ellos, y T₃ en el cerebro, que podría proceder en su mayor parte de la T₄. Las hormonas tiroideas presentes en el feto, especialmente la T₄, pueden ser de procedencia materna o fetal. En el ser humano, la T₄ de origen materno podría representar más del 50% de la T₄ fetal a término, en circunstancias normales⁸.

La presencia de receptores desde épocas tempranas del desarrollo fetal explica la patogenia de síndromes como el

cretinismo neurológico⁹. Este síndrome, caracterizado por alteraciones neurológicas, pero no necesariamente acompañado de hipotiroidismo, ocurre tras deficiencias graves de yodo durante los primeros meses de embarazo, lo que afecta a núcleos como el estriado, en los que hay una activa neurogénesis durante el segundo trimestre de gestación. En condiciones de ingesta normal de yodo, el paso de suficiente hormona materna a través de la placenta proporciona una protección al cerebro del feto en el hipotiroidismo congénito¹⁰, por lo que la sintomatología en estos casos no es tan grave como en el cretinismo neurológico. Por otro lado, la posibilidad de que la hormona tiroidea materna influya en el desarrollo del cerebro fetal, abre nuevas perspectivas sobre los estados de hipotiroxemia materna, más frecuentes de lo que sería de esperar en regiones desarrolladas. La hipotiroxemia materna, que no se acompaña de hipotiroidismo ni de hormona tirotrópica (TSH) elevada, se debe a deficiencia moderada de yodo, y puede tener efectos sutiles en el desarrollo del cerebro fetal, por lo que es necesario prestar mucha atención a la ingesta de yodo de las embarazadas¹⁰.

DIVERSIDAD DE LOS RECEPTORES DE HORMONA TIROIDEA

Las acciones fisiológicas de las hormonas tiroideas sobre el desarrollo del SNC, al igual que en el resto del organismo, son debidas a la interacción de la hormona tiroidea activa, T₃, con receptores nucleares. Estos receptores son factores de transcripción cuya actividad es modulada por la unión del ligando. Hay varias isoformas de receptor de T₃, que son a su vez productos de dos genes denominados *TRα* y *TRβ*. Estos dos genes, localizados en distintos cromosomas, originan varias proteínas¹¹. El gen *TRα* codifica tres proteínas, denominadas TRα1, TRvα2 y TRvα3, que difieren en el extremo carboxilo y se originan a partir del mismo transcrito mediante procesos de *splicing* alternativo. De estas tres proteínas, sólo el TRα1 es un auténtico receptor, puesto que es capaz de unir T₃ y activar o reprimir genes diana. Las variantes TRvα2 y TRvα3 no unen T₃ y es posible que en determinadas circunstancias antagonicen la

acción de la hormona. El gen *TR α* también produce proteínas truncadas, denominadas $\Delta\alpha 1$ y $\Delta\alpha 2$, cuyo papel fisiológico no es bien conocido, pero podrían desempeñar un papel en la regulación del desarrollo intestinal¹². Por su parte, el gen *TR β* también origina varias proteínas, de las cuales dos son conocidas desde hace tiempo, las TR $\beta 1$ y TR $\beta 2$, y otras dos que han sido identificadas recientemente, TR $\beta 3$ y la proteína truncada Δ TR $\beta 3$ ¹³. Las proteínas producto del gen *TR β* se diferencian en el extremo aminoterminal y todas son capaces de unir T₃. La proteína truncada Δ TR $\beta 3$, por su parte, no se une a ADN.

Así pues, existen al menos cuatro formas distintas de receptor de T₃ (una de ellas producto del gen α , y las otras tres producto del gen β), entendiéndose por receptor la molécula capaz de unir T₃ y ADN. Además, hay una serie de proteínas producidas por los mismos genes, de las cuales sólo Δ TR $\beta 3$ tiene la propiedad de unir T₃. La razón de la existencia de varias moléculas receptoras no se conoce, y el papel fisiológico de cada una de ellas y su contribución individual a los efectos tan diversos de las hormonas tiroideas se está empezando a diseccionar gracias al uso de animales modificados genéticamente.

El uso de animales deficientes en isoformas específicas del receptor de T₃ han permitido asignar algunas funciones específicas para dichas isoformas^{14,15}. Así, por ejemplo, se sabe que *TR β* está implicado en regulación de la secreción de TSH (TR $\beta 2$), metabolismo hepático (TR $\beta 1$), audición (TR $\beta 1$) y generación de fotorreceptores específicos para determinadas longitudes de onda (TR $\beta 2$), mientras que TR $\alpha 1$ controla la función cardíaca y el desarrollo intestinal. Los animales deficientes de todas las formas de receptor son viables y presentan un incremento desmesurado de la secreción de TSH y de hormona tiroidea, retraso en el crecimiento, e intolerancia al frío, pero no tienen anomalías obvias en desarrollo del SNC, lo que resulta muy paradójico, teniendo en cuenta las alteraciones profundas en el desarrollo posnatal debidas a la privación de hormona tiroidea desde períodos tempranos del desarrollo.

En nuestro laboratorio estamos interesados en las razones de estas discrepancias y en definir el papel de las isoformas de receptor en los procesos del desarrollo del SNC dependientes de hormona tiroidea. En este artículo se describe un trabajo nuestro reciente realizado sobre el papel de la isoforma TR $\alpha 1$ en el desarrollo del cerebelo¹⁶.

HORMONAS TIROIDAS NECESARIAS PARA EL DESARROLLO NORMAL DEL CEREBELO

La hormona tiroidea es esencial para el desarrollo armónico del cerebelo. El cerebelo es una estructura relativamente simple. De entre los grupos celulares del cerebelo, las células granulares y las células de Purkinje, son las más dependientes de las hormonas tiroideas durante el desarrollo. Las células de Purkinje se caracterizan por poseer una estructura muy ramificada, con un árbol dendrítico

muy elaborado. En ausencia de hormona tiroidea estas células no se desarrollan normalmente y presentan alteraciones muy características¹⁷, principalmente hipoplasia grave del árbol dendrítico y elongación de la dendrita proximal. Por otro lado, durante la morfogénesis del cerebelo se produce la migración de las células granulares desde la capa geminal externa, en la superficie del esbozo de cerebelo, hacia la capa granular interna. La hormona tiroidea es esencial para que este proceso se produzca a tiempo¹⁸, de forma que en una rata normal la migración se completa a los 20 días, mientras que en una rata hipotiroidea todavía a los 25 días existen células en la capa germinal externa que no han migrado.

Es presumible que estos efectos de la hormona tiroidea tengan lugar a través de los receptores T₃. Por tanto, los animales deficientes del receptor deberían presentar alteraciones similares a las presentes en el hipotiroidismo. El estudio del cerebelo tiene la ventaja de que la expresión de los genes del receptor está bien segregada, de forma que TR $\alpha 1$ se expresa en las células germinales, mientras que TR $\beta 1$ se expresa en las células de Purkinje. Por tanto, los animales con deficiencia de TR $\alpha 1$ deberían presentar, al menos, un retraso en la migración de las células granulares.

EL DESARROLLO DEL CEREBELO EN ANIMALES DEFICIENTES DE TR $\alpha 1$ ES NORMAL

Hemos examinado la estructura del cerebelo de ratones normales y de ratones deficientes (KO) de TR $\alpha 1$. El análisis reveló que a los 21 días después del nacimiento la migración celular había tenido lugar normalmente en ambos tipos de ratones, lo que está en abierta contradicción con la necesidad de T₃ para que se produzca dicha migración. Por otra parte, el tratamiento con T₃ a animales hipotiroideos fue capaz de normalizar el retraso en la migración que presentan estos animales, por lo que no se entiende por qué la ausencia de receptor no produjo ningún efecto.

EL HIPOTIROIDISMO NO PRODUCE ALTERACIONES DEL DESARROLLO DEL CEREBELO EN ANIMALES DEFICIENTES DE TR $\alpha 1$

Una posibilidad es que las isoformas de receptor TR β sean capaces de compensar la ausencia de receptor TR $\alpha 1$. A pesar de que las células granulares parecen expresar sólo TR $\alpha 1$, no puede descartarse la presencia de pequeñas cantidades de TR $\beta 1$ en estas células, difíciles de detectar, pero que en ausencia de TR $\beta 1$ fuesen capaces de compensar la ausencia de este receptor. Esto explicaría por qué los animales KO para TR $\alpha 1$ no presentan defectos de migración. Esta posibilidad es fácil de comprobar experimentalmente, simplemente haciendo hipotiroideos a los animales KO. El hipotiroidismo, en estos animales, tendría que producir un defecto de migración, al igual que en los animales normales, si el receptor TR $\beta 1$ estuviese implicado en la migración. Pues bien, la inducción de hipotiroi-

dismo en los animales KO no tiene ningún efecto en la migración de células granulares, como tampoco la tiene la diferenciación de las células de Purkinje.

¿Cómo puede explicarse que los animales KO para TR α 1 no sólo no presenten alteraciones en el desarrollo del cerebelo, sino que, además, sean resistentes a los efectos del hipotiroidismo? La posibilidad de que la inducción del hipotiroidismo en estos animales no fuese completa, quedó descartada tras la determinación de las concentraciones de hormonas tiroideas en la corteza cerebral, que indicó disminuciones similares en las concentraciones de T₄ y de T₃ en los animales normales y en los KO tras la inducción de hipotiroidismo.

EFFECTOS DE GC-1, UN ANÁLOGO DE T₃ ESPECÍFICO DE TR β , EN EL DESARROLLO DEL CEREBELO

La posibilidad de un efecto de T₃ a través de TR β sobre la migración se descartó también mediante el uso de GC-1, un compuesto análogo de T₃ específico para esta isoforma de receptor¹⁹. Este compuesto tiene acciones similares a T₃ en respuestas dependientes de TR β , como inhibición de TSH hipofisaria, reducción de colesterol y triglicéridos, inducción de UCP-1 en tejido adiposo marrón o de enzimas hepáticas²⁰. Sin embargo, no tiene defectos sobre la frecuencia cardíaca o en la inducción de genes cardíacos, respuestas típicas de TR α 1²¹. Para estudiar el efecto de este compuesto sobre la estructura del cerebelo se indujo hipotiroidismo en ratones y se les administró T₃ o GC-1 en dosis equivalentes. Puesto que las células de Purkinje expresan TR β 1, se estudió el efecto de GC-1, en comparación con T₃, la inducción de un gen específico de estas células, denominado *PCP-2*. La expresión de este gen estaba disminuida en el cerebelo de los ratones hipotiroideos y tanto la administración de T₃, como de la de GC-1 fueron capaces de inducir el gen de forma similar. Es decir, GC-1, actuando a través del TR β de las células de Purkinje, tuvo el mismo efecto que T₃ sobre la inducción de *PCP-2*. En cambio, la administración de GC-1 no tuvo ningún efecto sobre la migración de las células granulares, mientras que la administración de T₃ la normalizó. Por tanto, hemos descartado que la falta de efecto del hipotiroidismo sobre la migración de las células granulares en los animales deficientes de TR α 1 sea debida a compensación por el TR β .

UNA HIPÓTESIS DE TRABAJO A MODO DE CONCLUSIÓN: EL EFECTO DEL HIPOTIROIDISMO SOBRE EL DESARROLLO DEL CEREBELO SE DEBE A LA INHIBICIÓN EJERCIDA POR EL RECEPTOR EN AUSENCIA DE LA HORMONA

Por tanto, es necesario encontrar alguna explicación alternativa. Lo que nuestros experimentos indican es que la migración de las células granulares del cerebelo ocurre normalmente en ausencia de TR α 1, por lo que este receptor no es necesario para la migración de estas células. En

el hipotiroidismo, la presencia del receptor, en ausencia de la hormona, debe tener un efecto inhibitorio de la migración, con efectos negativos sobre la estructura del cerebelo y sobre la diferenciación de las células de Purkinje. Esto es debido a que el receptor, en ausencia de hormona, tiene un efecto muy potente de represión de la expresión de genes. Los efectos del hipotiroidismo, al menos sobre la estructura del cerebelo, se deberían al efecto represor de la expresión génica por el receptor en ausencia de la hormona. El papel fisiológico de ésta sería, por tanto, impedir la represión por el receptor. Aunque este concepto aparentemente relega a la hormona tiroidea a un papel secundario, nuestra hipótesis de trabajo es que la represión ejercida por el receptor, controlada por la hormona durante el desarrollo, proporciona un posible mecanismo por el cual la hormona tiroidea podría controlar tiempos de desarrollo, es decir el *timing* de dichos procesos, proporcionando un mecanismo fino de coordinación de los mismos.

Agradecimientos

El trabajo experimental en el laboratorio del autor está financiado por la DGYCT (PM98-0118), la Comunidad de Madrid (08.5/0044/2000 1) y la Unión Europea (QLG3-CT-2000-00930).

BIBLIOGRAFÍA

- Bernal J. Mecanismos de regulación de la hormona tiroidea en el desarrollo neural. *Endocrinología* 2001; 48: 202-216.
- St. Germain DL, Galton VA. The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid* 1997; 7: 655-668.
- Guadaño-Ferraz A, Obregón MJ, St. Germain D, Bernal J. The type 2 iodothyronine deiodinase is expressed primarily in glial cells in the neonatal rat brain. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1997; 94: 10391-10396.
- Escámez MJ, Guadaño-Ferraz A, Bernal J. Type 3 iodothyronine deiodinase is selectively expressed in areas related to sexual differentiation in the newborn rat brain. *Endocrinology* 1999; 140: 5443-5446.
- Bradley DJ, Towle HC, Young WS. Spatial and temporal expression of α - and β -thyroid hormone receptor mRNAs, including the β_2 -subtype, in the developing mammalian nervous system. *J Neurosci* 1992; 12: 2288-2302.
- Mellström B, Naranjo JR, Santos A, González AM, Bernal J. Independent expression of the α and β *c-erbA* genes in developing rat brain. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 1339-1350.
- Bernal J, Pekonen F. Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the human fetal brain. *Endocrinology* 1984; 114: 677-679.
- Vulsma T, Gons MH, De Vijlder J. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid dysgenesis. *N Engl J Med* 1989; 321: 13-16.
- DeLong GR, Stanbury JB, Fierro-Benitez R. Neurological signs in congenital iodine-deficiency disorder (endemic cretinism). *Dev Med Child Neurol* 1985; 27: 317-324.
- Morreale de Escobar G, Obregón MJ, Escobar del Rey F. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism, or to maternal hypothyroxinemia? *J Clin Endocrinol Metabol* 2000; 85: 3975-3987.
- Ribeiro RCJ, Appirelletti JW, Wagner RL, West BL, Feng W, Huber R et al. Mechanisms of thyroid hormone action: Insights from X-ray

- crystallographic and functional studies. *Rec Prog Horm Res* 1998; 53: 351-394.
12. Gauthier K, Plateroti M, Harvey CB, Williams GR, Weiss RE, Refetoff S et al. Genetic analysis reveals different functions for the products of the thyroid hormone receptor alpha locus. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 4748-4760.
 13. Williams GR. Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptor beta isoforms. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 8329-8342.
 14. Hsu JH, Brent GA. Thyroid hormone receptor gene knockouts. *Trends Endocrinol Metabol* 1998; 9: 103-112.
 15. Forrest D, Vennström B. Functions of thyroid hormone receptors in mice. *Thyroid* 2000; 10: 41-52.
 16. Morte B, Manzano J, Scanlan TS, Vennström B, Bernal J. Deletion of the thyroid hormone receptor alpha 1 prevents the structural alterations of the cerebellum induced by hypothyroidism. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2001. En prensa.
 17. Hajos F, Patel AJ, Balazs R. Effects of thyroid deficiency on the synaptic organization of the rat cerebellar cortex. *Brain Res* 1973; 50: 387-401.
 18. Legrand J. Effects of thyroid hormones on Central Nervous System. En: Yanai J, ed. *Neurobehavioral Teratology*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984; 331-363.
 19. Chiellini G, Apriletti JW, Al Yoshihara H, Baxter JD, Ribeiro RC, Scanlan TS. A high-affinity subtype-selective agonist ligand for the thyroid hormone receptor. *Chem Biol* 1998; 5: 299-306.
 20. Ribeiro MO, Carvalho SD, Schultz JJ, Chiellini G, Scanlan TS, Bianco AC et al. Thyroid hormone-sympathetic interaction and adaptative thermogenesis are thyroid hormone receptor isoform-specific. *J Clin Invest* 2001; 108: 97-105.
 21. Trost SU, Swanson E, Gloss B, Wang-Iverson DB, Zhang H, Volodarsky T et al. The thyroid hormone receptor-beta-selective agonist GC-1 differentially affects plasma lipids and cardiac activity. *Endocrinology* 2000; 141: 3057-3064.