

Revisiones

Las hormonas tiroideas intervienen de forma crítica en el desarrollo del sistema nervioso central. El hipotiroidismo fetal y/o neonatal ocasiona defectos de mielinización, así como de migración y diferenciación neuronales, que dan lugar a retraso mental y síntomas neurológicos. La mayoría de las acciones de las hormonas tiroideas son debidas a la interacción de la forma activa, T3, con receptores nucleares que están ya presentes en el cerebro fetal de rata el día 14 después de la concepción, y en el feto humano en la décima semana de gestación. Las hormonas tiroideas presentes en el feto pueden ser de procedencia materna o fetal. La T4 de origen materno contribuye más del 50% de la T4 fetal a término. La concentración de T3 en el sistema nervioso central está estrechamente regulada por las desyodasas tipos II y III. La desyodasa tipo II, que se expresa en tanicitos y en astrocitos, genera localmente, a partir de T4, la mayor parte de T3 presente en el sistema nervioso. La desyodasa tipo III, en neuronas, degrada T4 y T3 a metabolitos inactivos. La hormona tiroidea regula la expresión de una serie de genes que codifican proteínas de diversa función fisiológica: proteínas de mielina, proteínas implicadas en la adhesión y migración celulares, proteínas de señalización, componentes del citoesqueleto, proteínas mitocondriales, factores de transcripción, etc. El papel de la hormona tiroidea es el de ajustar los niveles de expresión, a la alta o a la baja, durante un período corto del desarrollo. Sólo una pequeña fracción de los genes identificados son regulados en sistema nervioso central adulto. En la mayoría de los casos, el papel de la hormona tiroidea consiste en acelerar los cambios de expresión que ocurren durante el desarrollo, sin influir en la concentración final del producto génico que, aunque con retraso, llega a alcanzar un valor normal en animales hipotiroideos, aun en ausencia de tratamiento. Desde el punto de vista clínico, aparte de los síndromes por deficiencia profunda de yodo, o hipotiroidismo congénito, se está prestando especial atención a los estados de hipotiroxinemia materna.

Palabras clave: Cretinismo. Hipotiroxinemia. Expresión génica. Hormonas tiroideas. Receptores nucleares. Desarrollo cerebral. Desyodasas.

Mecanismos de regulación por hormona tiroidea en el desarrollo neural

J. BERNAL

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

THYROID HORMONES AND BRAIN DEVELOPMENT

Thyroid hormones are critically involved in brain maturation. Fetal and neonatal hypothyroidism leads to defects of cell migration and differentiation and to hypomyelination, with different degrees of mental retardation and neurological symptoms. Most actions of thyroid hormones are due to interactions of triiodothyronine (T3) with nuclear receptors which are present in the rat from embryonic day 14, and in the human at least from the end of the first trimester of pregnancy. Brain T3 is tightly regulated by the actions of deiodinases II and III. The former produces T3 from T4, which might be of maternal or fetal origin. Maternal hypothyroxinemic states may have consequences in fetal brain development. Deiodinase type II is predominantly expressed in the tanycytes lining the wall of the third ventricle and in astrocytes. T3 is inactivated by type III deiodinase, present in neurons, and abundantly expressed in the fetal and early postnatal periods. A number of genes have been identified as regulated by thyroid hormones in the rat brain, including genes encoding myelin proteins, proteins involved in intracellular signalling, neurotrophins and their receptors, cytoskeletal components, mitochondrial proteins, cell adhesion molecules, extracellular matrix proteins, transcription factors, and cerebellar-specific genes. Thyroid hormones induce either upregulation or downregulation of gene expression during development and most genes are sensitive to thyroid hormones only during a narrow time window and, with some exceptions, are not regulated in adult brain. In most cases the role of thyroid hormones is to accelerate developmental changes in gene expression, without influencing the final concentration of particular gene products, most of which normalize spontaneously in hypothyroid animals even in the absence of treatment. Many problems remain to be solved, mostly the molecular basis for the regional restriction of hormonal action and during limited developmental windows, and the individual role of the different T3 receptor isoforms. In addition, it is very likely that the genes identified so far are only a small fraction of a large gene network regulated by thyroid hormones.

Key words: Cretinism. Hypothyroxinemia. Gene suppression. Thyroid hormones. Nuclear receptors. Brain development. Deiodinases.

*En esta revisión el término "hormonas tiroideas" se refiere a los productos de la glándula tiroidea, T4 (tiroxina 3,5,3',5'-tetrayodo-L-tironina) y T3 (3,5,3'-trayodo-L-tironina). En singular, "hormona tiroidea" se refiere al producto activo, T3, que se une al receptor nuclear e induce respuestas genómicas.

Correspondencia: Prof. J. Bernal.
Instituto de Investigaciones Biomédicas. Arturo Duperier, 4. 28029 Madrid.
Correo electrónico: jbernal@iib.uam.es

Manuscrito recibido el 5-2-2001; aceptado para su publicación el 11-6-2001.

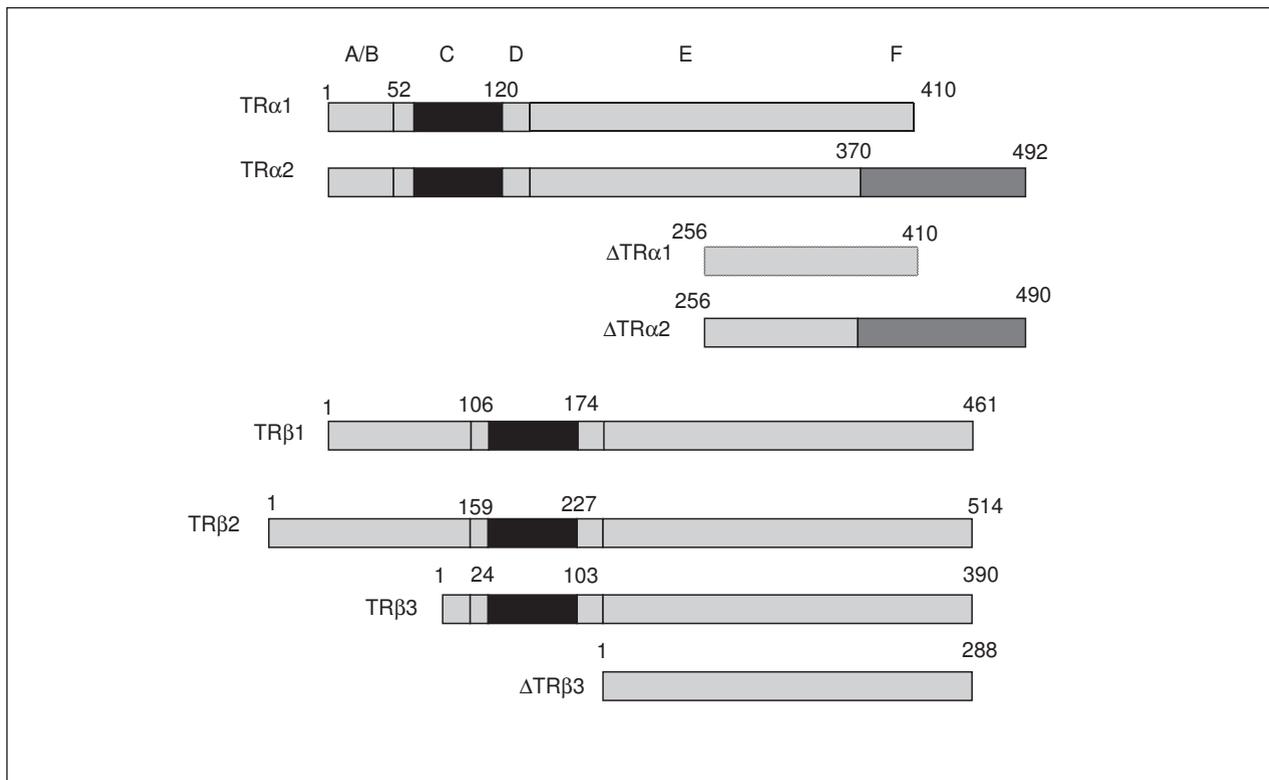


Fig 1. Esquema de los receptores de T3 y otros productos derivados de los genes respectivos. Se representan los dominios clásicos de los receptores nucleares, A/B, C, D, E y F. De ellos, el dominio C corresponde al de unión a ADN, el E el de unión de ligando, y el F al de activación. El gen α produce TR α 1 y TR α 2, así como dos formas truncadas, Δ TR α 1 y Δ TR α 2. TR α 1 es la única proteína producto de este gen con propiedad de receptor; es decir, su capacidad de activar o reprimir genes es modulada por la unión de T3. TR α 2 ha perdido la capacidad de unión de T3 como consecuencia de la modificación de la secuencia en el extremo carboxilotermino por splicing alternativo. Las formas truncadas conservan la secuencia del extremo carboxilotermino de TR α 1 y TR α 2, carecen de la capacidad de unión a ADN y tampoco unen T3. El gen β produce las proteínas receptoras TR β 1, TR β 2 y TR β 3, que se diferencian en el extremo aminotermino, conservando idénticas la región de unión a ADN y la de unión de ligando. Además, existe una forma truncada, Δ TR β 3, que conserva la secuencia de unión a T3, pero no a ADN, y posee una actividad fuertemente antagonista de los receptores.

Las hormonas tiroideas^{1*} regulan el desarrollo y la función del sistema nervioso central (SCN). En el individuo adulto, las alteraciones hormonales pueden ocasionar, además de manifestaciones metabólicas, trastornos de carácter neurológico o psiquiátrico que pueden remitir tras un tratamiento adecuado. En cambio, durante el desarrollo las alteraciones de la función tiroidea pueden dar lugar a daños irreversibles. El propósito de esta revisión es examinar mecanismos de regulación por la hormona tiroidea en el SNC durante el desarrollo en mamíferos, así como algunas de sus implicaciones fisiopatológicas. Se recomienda consultar otras revisiones que han tratado diversos aspectos de este tema en los últimos años¹⁻⁹.

La mayoría de los estudios sobre los mecanismos de acción de la hormona tiroidea en el desarrollo del SNC se han realizado en la rata. Para extrapolar al ser humano los datos obtenidos, es necesario tener en cuenta las diferencias temporales de las secuencias del desarrollo^{1,10}. El ser humano nace muy inmaduro y la mayor parte del crecimiento encefálico es posnatal. La rata también nace con un sistema nervioso inmaduro, y con un eje hipotálamo-hipófisis-tiroides más inmaduro aún que el del ser humano. Como referencia práctica se ha señalado que, desde el punto de vista del desarrollo neural, la rata recién nacida equivale a un feto humano en el segundo trimestre, mientras que el niño recién nacido es equivalente a la rata de 6 a 10 días⁵.

ASPECTOS GENERALES DEL PAPEL DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN EL DESARROLLO NEURAL

El hipotiroidismo neonatal en la rata produce múltiples alteraciones histológicas⁵, pero en esta revisión sólo se hará referencia a las más llamativas. Las hormonas tiroideas intervienen en procesos relativamente tardíos de migración y diferenciación celular, no existiendo evidencia alguna de que actúen durante el desarrollo embrionario temprano. El efecto de las hormonas tiroideas sobre la migración y diferenciación se aprecia de forma muy llamativa en el cerebelo de rata, concretamente en la migración de las células granulares y en la diferenciación de las células de Purkinje. Los precursores de las células granulares proliferan en la capa germinal externa ya en edad posnatal y migran hacia el interior, formando la capa granular interna. La migración termina hacia el día posnatal 20 (P20), desapareciendo completamente la capa germinal. En ratas hipotiroideas es muy característica la persistencia de esta capa después de P20¹¹, lo que es debido a un enlentecimiento de la migración de las células granulares.

La migración celular también se ve afectada por el hipotiroidismo en otras regiones, como la corteza cerebral y el hipocampo, aunque los efectos no son tan llamativos como en el cerebelo. La corteza cerebral, con su característica estruc-

tura en capas, se forma por la migración de células desde el neuroepitelio hacia la superficie del cerebro. La proliferación y migración de los neuroblastos dan lugar a las capas de la corteza cerebral mediante un proceso denominado *inside out*, por el que las células que migran más tempranamente forman la capa más profunda (capa VI). Las células en migración atraviesan las capas ya formadas, desplazando a las células más viejas hacia el interior, y se sitúan inmediatamente por debajo de la capa más superficial y primitiva, la capa I. Esta capa contiene las células horizontales o de Cajal-Retzius¹², que segregan al espacio extracelular una proteína esencial para las migraciones neuronales, denominada Reelin. La falta de esta proteína es responsable del fenotipo *reeler* en ratones, con graves alteraciones de la estructura de la corteza cerebral¹³. Las células de Cajal-Retzius son dianas de las hormonas tiroideas^{14,15}. La deficiencia de la hormona tiroidea durante el período de desarrollo cortical, entre los días 15 y 18 de la etapa prenatal (E15-E18), ocasiona alteraciones de la estructura fina de la corteza y una distribución alterada de las conexiones callosas¹⁶⁻¹⁸, que en parte pueden ser debidas a interferencias con la migración celular¹⁹.

También en el cerebelo es donde los efectos de las hormonas tiroideas en la diferenciación de neuronas se ponen más claramente de manifiesto. El hipotiroidismo neonatal interfiere de forma notable con la formación de la rica arborización dendrítica de las células de Purkinje²⁰. Otras poblaciones neuronales del cerebro también manifiestan un menor crecimiento axonal y dendrítico en animales hipotiroideos, como las células colinérgicas de los ganglios basales^{21,22}. En la corteza cerebral y en el hipocampo, el número y la distribución de las espinas dendríticas de las células piramidales son anormales^{23,24}. Estas últimas alteraciones pueden ser inducibles por el hipotiroidismo adulto, siendo en este caso reversibles tras el tratamiento hormonal.

Las hormonas tiroideas son necesarias para una mielinización normal, lo que se debe en gran parte a efectos en la diferenciación de otro tipo celular, los oligodendrocitos. El hipotiroidismo causa un retraso en la mielinización²⁵⁻²⁷, mientras que el hipertiroidismo la acelera²⁸. Las consecuencias del hipotiroidismo neonatal son una disminución en la cantidad de mielina depositada en la sustancia blanca y una reducción del número de axones mielinizados^{22,29}.

RECEPTORES DE HORMONA TIROIDEA

Subtipos y mecanismo de acción

Aparte de acciones extragenómicas no bien caracterizadas sobre la membrana celular³⁰, la mayoría de las acciones biológicas de las hormonas tiroideas son consecuencia del control de la expresión de genes tras la interacción de la hormona activa, T3, con receptores localizados en el núcleo celular. Los receptores de T3 son factores de transcripción cuya actividad es modulada por el ligando y que pertenecen a una familia de proteínas entre las que se encuentran los receptores de esteroides, vitamina D₃, retinoides y otras muchas moléculas similares^{4,31,32}.

En mamíferos hay tres tipos de receptor de T3, producto de dos genes *TRα* y *TRβ* (fig. 1), localizados en distintos cromosomas (17 y 3, respectivamente, en humanos). El gen *TRα* codifica tres proteínas con variaciones del carboxilo-terminal, el receptor TRα1 y dos formas truncadas que no unen hormona, TRvα2 y TRvα3³³, además de un factor de transcripción producto de un ARN mensajero (ARNm) que se transcribe a partir del mismo gen *α*, pero en dirección contraria (RevErbAα)^{34,35}. El gen *TRβ* produce variantes del

extremo aminoterminal; de ellas, las clásicas son TRβ1 y TRβ2, pero recientemente se han descrito dos nuevas formas, TRβ3, y ΔTRβ3³⁶; esta última tiene actividad represora. Además, existen productos truncados del gen *α*, denominados Δα1 y Δα2, de función desconocida³⁷.

Los receptores de T3 modulan la transcripción uniéndose a secuencias de ADN situadas en regiones reguladoras de los genes diana que se conocen como elementos de respuesta a T3 (TRE). Estas secuencias consisten en dos repeticiones (hemisitios) de un hexámero (AGG T/A CA) que pueden estar orientadas en varias configuraciones³¹. La más común es la repetición directa (DR4), en la que los dos hemisitios tienen la misma orientación, estando separados por cuatro nucleótidos. Los receptores se unen al ADN generalmente en forma de heterodímeros con otras proteínas, especialmente RXR, el receptor de ácido retinoico 9-cis.

Los receptores de T3 poseen una acción fuertemente represora en ausencia de T3³⁸. Tras la unión de T3 se produce primero una desrepresión, seguida de una activación de la transcripción. El mecanismo consiste en el reclutamiento de complejos que contienen factores denominados correpresores y coactivadores; estos factores son proteínas con actividad desacetilasa o acetilasa de histonas, respectivamente³⁹. En ausencia del ligando, el receptor interacciona con correpresores, se desacetila la cromatina haciéndose más compacta y se reprime la transcripción⁴⁰. La unión de T3 disocia el complejo, se reclutan coactivadores, acetilándose la cromatina e incrementándose la transcripción⁴¹. Entre los correpresores están N-CoR, SMRT y Alien⁴², y entre los coactivadores, Tripl, TRAM1 y SRC-1⁴³.

Ontogenia

En cerebro de rata se detectan cifras bajas del receptor de T3 en el día embrionario 14 (E14), varios días antes del comienzo de la función tiroidea, que ocurre hacia E17-E18⁴⁴. La concentración de receptor aumenta progresivamente hasta alcanzar los valores adultos entre los días posnatales 2-6^{44,45}. La ocupación del receptor por la hormona también aumenta, en paralelo al incremento de las concentraciones tisulares de T3, alcanzando un máximo del 60% hacia el día 15 después del nacimiento⁴⁶.

En el cerebro humano los ARNm de las isoformas α1, β1 y β2 están ya presentes durante el primer trimestre de gestación⁴⁷. La concentración de la proteína receptora, medida mediante ensayos de unión de ligando, es muy baja hacia la décima semana de gestación, pero aumenta unas 10 veces a lo largo del segundo trimestre⁴⁸, un período de rápido crecimiento del cerebro debido a la proliferación de neuroblastos. Durante el segundo trimestre de gestación la actividad tiroidea fetal es aún moderada, pues la formación de los folículos tiroideos no ocurre hasta después de las 14 semanas de gestación⁴⁹. A las 18 semanas, el receptor de T3 está también presente en otros órganos, como el hígado y pulmón, y aunque estos órganos contienen cantidades apreciables de T4, la T3 es indetectable y los receptores permanecen libres de hormona. En el cerebro, por el contrario, la T3 está ya presente al menos desde la décima semana, a una concentración que permite una ocupación del 25% de los receptores⁵⁰. Esto implica que en el SNC se produce una acumulación selectiva de T3 en edades del desarrollo en las que en otros tejidos es indetectable. La excepcionalidad del cerebro en cuanto a la ocupación de los receptores de T3 por su ligando se pone también de manifiesto en otras especies. En el feto de oveja de 100 días la ocupación de los receptores de T3 en el cerebro puede alcanzar el 60% frente a un 10% en el hígado y el pulmón, con un gradiente de concentración de T3 libre entre el plasma, el citosol y el

núcleo⁵¹. Todo esto indica la existencia de mecanismos que permiten una ocupación elevada de los receptores de T3 en cerebro frente a otros órganos, lo que puede ser debido a la expresión local temprana de desyodasa tipo II^{52,53}.

Expresión regional de las isoformas de receptor

La mayoría de los datos de distribución regional de los receptores de T3 en el ARNm (estudiado mediante hibridación *in situ*) o en la proteína (mediante inmunohistoquímica) se han obtenido en la rata y en el pollo. En la rata, el ARNm de TR α 1 se detecta en el tubo neural a E11,5⁵⁴. También en el embrión de pollo TR α 1 es detectable en etapas tempranas del desarrollo, como E5⁵⁵. Hacia E14, es decir, cuando por primera vez puede detectarse actividad de unión a ligando, TR α 1 es la isoforma predominante, expresándose en la neocorteza, corteza piriforme, hipocampo y colículo superior. En ratas adultas TR α 1 se expresa en corteza, capas piramidal y granular del hipocampo, núcleo estriado, capa granular del cerebelo y bulbo olfatorio^{54,56}. El patrón de expresión de TR β 1 durante el desarrollo es diferente del de TR α 1, siendo predominantemente posnatal. Durante el período fetal, bajos títulos de expresión se encuentran en el neuroepitelio y en la región CA1 del hipocampo. En el primer día después del nacimiento se produce un rápido aumento en el núcleo estriado y en la región CA1 del hipocampo. A partir de P7, y en la edad adulta, se expresa además en la corteza cerebral, no llegando a detectarse en el cerebelo. El ARNm de TR β 2, que se expresa preferentemente en la hipófisis⁵⁷, sólo se encuentra a bajas concentraciones en el caudado rostral, hipocampo e hipotálamo durante el período fetal⁵⁴.

La distribución de las respectivas proteínas mediante inmunohistoquímica no siempre corresponde con la de los mensajeros, encontrándose en regiones en las que no se detecta el ARNm correspondiente. El caso más llamativo es la isoforma TR β 2. Aunque considerada específica de la hipófisis, mediante inmunoprecipitación selectiva de los receptores previamente cargados con T3 radiactiva se ha calculado que TR β 2 contribuye al 10% del total de receptor presente en distintos tejidos, entre ellos el cerebro⁵⁸, y la inmunohistoquímica revela que la proteína TR β 2 está presente, además del hipotálamo, en regiones donde el ARNm no se detecta, como capas II-VI de la corteza cerebral y células de Purkinje del cerebelo⁵⁹. No se conocen las razones de esta discrepancia⁶⁰.

La distribución regional de las isoformas de receptor de T3, así como el patrón obtenido mediante inmunohistoquímica, revela que los receptores se expresan fundamentalmente en neuronas, aunque en células en cultivo se pueden detectar en neuronas, oligodendrocitos y astrocitos^{61,62}. Estudios de colocalización de isoformas de receptor con marcadores de distintos tipos celulares indican la presencia de receptor en neuronas y oligodendrocitos, pero no en astrocitos⁶³.

HORMONAS TIROIDEAS EN EL CEREBRO

El tiroides fetal es activo en el ser humano a partir del segundo trimestre, por lo que durante el primero y parte del segundo la única fuente de hormona tiroidea para el feto es la procedente de la madre. A partir del comienzo de la función tiroidea fetal y hasta el nacimiento, el feto podría recibir hormona materna, además de la propia. Tras el nacimiento, la única fuente significativa es la formada por la glándula del recién nacido, pues la cantidad de hormona segregada por la leche durante la lactancia es ínfima⁶⁴. Según este planteamiento, es esencial definir cuál es la contribu-

ción de la hormona tiroidea materna, lo que tiene importantes repercusiones fisiopatológicas.

Paso transplacentario

El paso transplacentario de hormona tiroidea en la rata ha sido ampliamente estudiado por Morreale de Escobar et al⁹. Pueden detectarse hormonas tiroideas de origen materno en el embrión, mucho antes del comienzo de la función tiroidea fetal⁶⁵⁻⁶⁹. Al final de la gestación, la T4 de origen materno representa el 17,5% del *pool* extratiroideo fetal⁷⁰. El paso de hormona tiroidea a través de la placenta humana ha sido un tema muy controvertido desde los años cincuenta^{71,72}, y ha sido demostrado finalmente por Vulsma et al⁷³. Estos autores analizaron la sangre del cordón de recién nacidos con total incapacidad de sintetizar hormona, por agenesia tiroidea o defecto de organificación, y encontraron T4 a concentraciones del orden del 50 al 70% de las cifras normales. Puesto que el tiroides fetal estaba ausente o no era funcional, esta T4 sólo podía proceder del tiroides materno. En etapas tempranas del desarrollo la T4 materna llega incluso al fluido celómico que baña el saco vitelino⁷⁴.

Transporte de la hormona tiroidea al sistema nervioso central

La entrada de T4 y T3 en el parénquima del SNC ocurriría a través de dos posibles vías: directamente de la sangre, a través de los capilares distribuidos por el parénquima, o mediante el paso previo al líquido cefalorraquídeo (LCR). El paso directo de sustancias desde la sangre está restringido por la barrera hematoencefálica, constituida por las células endoteliales de los capilares, la lámina basal y los pies de los astrocitos que envuelven los capilares. Por otro lado, el paso de la sangre al LCR tiene lugar a través de las células epiteliales que cubren el lado ventricular de los plexos coroideos⁷⁵. La contribución de cada vía al transporte de T4 al encéfalo no se conoce con exactitud, aunque la del LCR se ha estimado en un 20%⁷⁶. Ambas vías podrían tener un significado biológico distinto. Por ejemplo, la administración intratecal directa de T4 marcada resulta en su acumulación en la eminencia media, con una fracción muy pequeña en otras estructuras^{77,78}.

En relación con el mecanismo de transporte de la hormona tiroidea a través del plexo coroideo, se propuso un papel importante para la transtiretina (TTR) en el transporte de T4^{79,80}. En contra de esta hipótesis, ratones deficientes de TTR no presentan ninguna alteración en el transporte de T4 al cerebro^{81,82}.

EXPRESIÓN Y DISTRIBUCIÓN REGIONAL DE LAS DESYODASAS

Implicación de las desyodasas en el control de la T3 intracelular

Las desyodasas son selenoenzimas que producen T3 a partir de T4 (5'-desyodasas tipo I y II, o DI y DII) o degradan la T4 y la T3 a metabolitos inactivos (5-desyodasa, desyodasa tipo III, o DIII, que degrada la T4 a rT3, y la T3 a 3,3'T2). En el SNC, las desyodasas constituyen un mecanismo regulador de las concentraciones locales de T4 y T3, que tiende a mantener las concentraciones de T3 dentro de márgenes muy estrechos en distintas situaciones fisiopatológicas^{83,84}. La clonación de estas desyodasas^{53,85,86} ha hecho posible el estudio de su expresión regional en el SNC. En éste se expresan fundamentalmente la DII en las etapas finales de la gestación y en el período posnatal, y la DIII en

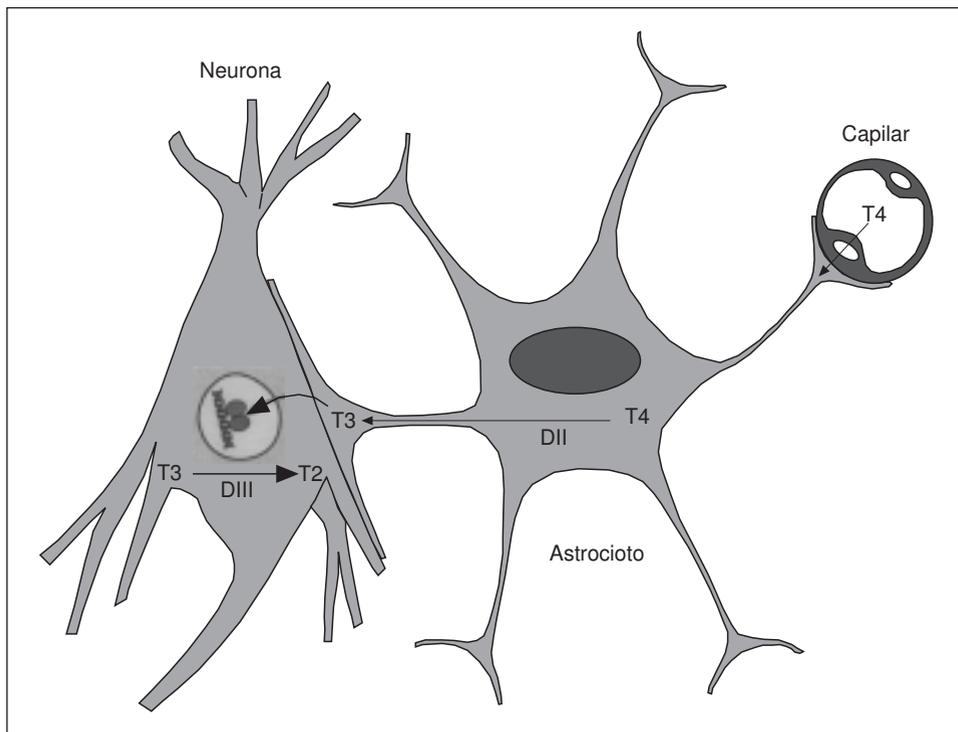


Fig 2. Esquema hipotético sobre la interacción entre astrociotos y neuronas en el control de la concentración de T3. La T4 de la sangre capilar es captada por los astrociotos que expresan desyodasa tipo II. La T3 formada a partir de T4, por la actividad de esta enzima, pasa a las neuronas donde interacciona con los receptores nucleares. La actividad de desyodasa tipo III, fundamentalmente de expresión neuronal, degrada T3 al metabolito inactivo T2.

los períodos embrionario y fetal, así como posnatal temprano.

La importancia de la desyodasa tipo II se refleja en el hecho de que más del 50% de la T3 intracelular en el SNC, al igual que en la adenohipófisis y grasa parda, procede de desyodación local de T4^{87,88}. Más aún, más del 80% de la T3 unida al receptor nuclear se forma localmente en el SNC⁸⁹. Éste es uno de los posibles mecanismos que permiten un alto grado de saturación del receptor nuclear en el encéfalo, muy superior al de tejidos como el hígado, pulmón o riñón, en los que la T3 nuclear procede directamente del plasma. Una característica importante de la DII es que su actividad se inhibe por el sustrato, T4. Esto hace que la actividad DII aumente en el hipotiroidismo y disminuya en el hipertiroidismo⁹⁰, lo que tiende a mantener constantes las concentraciones de T3. En ratas sometidas a dieta pobre en yodo, el incremento de DII consigue mantener la concentración de T3 en el cerebro, a pesar de una disminución importante de la concentración de T4⁹¹.

Expresión de la desyodasa tipo II en células gliales: tanicitos y astrociotos

La actividad DII aumenta de forma acusada hacia el final de la gestación^{92,93}, en paralelo a la concentración tisular de T3, que experimenta un incremento de 18 veces durante el mismo período⁹². El ARNm de DII se expresa fundamentalmente en los tanicitos, unas células gliales especializadas que tapizan parcialmente la pared del tercer ventrículo y el infundíbulo^{94,95}. De acuerdo con esto, la actividad enzimática DII es 4 veces mayor en la eminencia media que en la corteza cerebral⁹⁶. Los tanicitos envían prolongaciones hacia el hipotálamo y la eminencia media terminando en capilares y en terminales de axones. El hallazgo de una alta expresión de DII en los tanicitos fue algo completamente inesperado, y su significado biológico aún no está claro. Los tanicitos podrían captar T4 del LCR, o bien de los capi-

lares del hipotálamo y/o eminencia media. La T3 generada en estas células podría pasar al LCR desde donde se distribuiría por el resto del encéfalo mediante difusión. También es posible que los tanicitos segreguen a la eminencia media la T3 generada localmente, que pasaría a la adenohipófisis a través de los vasos porta, interviniendo en el control de la secreción de TSH. El atractivo de esta hipótesis es que la concentración de T4 del LCR sería un factor adicional de regulación de la actividad tiroidea.

Además de los tanicitos, otras regiones del encéfalo expresan DII, aunque en menor cuantía, como la corteza cerebral, el hipocampo y el cerebelo. En estas regiones la DII se expresa fundamentalmente en astrociotos⁹⁴, aunque en determinadas localizaciones, como los barriles corticales, se puede demostrar presencia de DII en algunas interneuronas⁹⁷. En ratas profundamente hipotiroideas la expresión de DII está muy incrementada en núcleos de las vías somatosensoriales⁹⁷. También la DII alcanza altos títulos de expresión en la cóclea justo antes del comienzo de la audición⁹⁸, lo que posiblemente indique que se necesitan altas concentraciones locales de T3 en momentos críticos del desarrollo coclear.

Aunque la DII se expresa predominantemente en astrociotos, las neuronas son las células neurales que poseen una mayor dotación de receptores de T3^{63,99}. Por tanto, los astrociotos estarían implicados en la captación de T4 de los capilares, su conversión en T3, y el aporte de esta T3 producida a las neuronas como células diana (fig. 2). Esta cooperación entre astrociotos y neuronas es reminiscente de otras formas de acoplamiento metabólico entre estos dos tipos celulares como, por ejemplo, el aporte de lactato a las neuronas a partir de la glucosa metabolizada por los astrociotos¹⁰⁰. La razón de esta sofisticada interacción no se conoce, pero algo similar ocurre en la cóclea; en este órgano la DII se expresa en células del tejido conectivo⁹⁸ mientras que el receptor de T3 está presente en el epitelio sensorial y células del ganglio espiral^{98,101,102}.

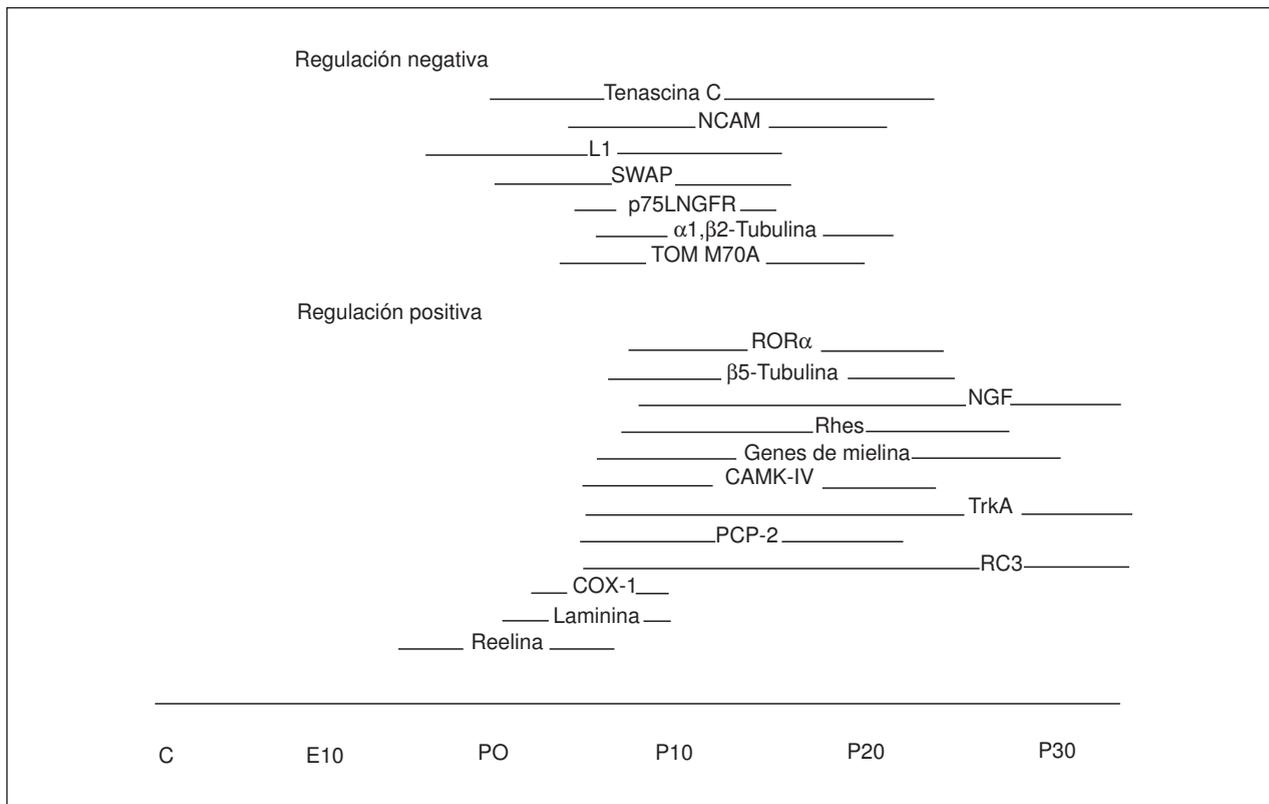


Fig 3. Esquema de la regulación de la expresión de genes por la hormona tiroidea en encéfalo de rata. El tiempo de desarrollo se simboliza por la línea horizontal, en la que C es el momento de la concepción; E, la edad embrionaria, y P, la edad posnatal. Se representan algunos de los genes regulados que se indican en el texto, con el período aproximado de la etapa en la que son sensibles a la hormona tiroidea. De los genes representados, L1 y Reelina son sensibles en edad fetal, y NGF, TrkA y RC3 son sensibles en encéfalo adulto.

La desyodasa tipo III es neuronal y se expresa en áreas implicadas en la diferenciación sexual del cerebro

La actividad DIII es muy elevada en la placenta y en los tejidos del feto, y disminuye tras el nacimiento^{93,103,104}. En la placenta humana la actividad DIII es 200 veces mayor que la actividad DII en cualquier edad gestacional¹⁰⁵. En la rata adulta la expresión de DIII se limita a la piel, el cerebro y el útero. A pesar de que la actividad DIII puede ser inducida en cultivos de astrocitos, *in vivo* el ARNm está presente en las neuronas^{106,107}.

La extraordinaria importancia de DIII en la regulación de procesos del desarrollo, mediante el control de la degradación de T3, se ha puesto de manifiesto en la metamorfosis de anfibios. En los renacuajos hay una correlación negativa entre la expresión de DIII en distintos tejidos y la sensibilidad de estos tejidos a T3^{108,109}; de hecho, la actividad local de DIII en la retina de los renacuajos es la causa del crecimiento asimétrico de la misma durante la metamorfosis¹¹⁰. La sobreexpresión de DIII en renacuajos transgénicos bloquea la metamorfosis¹¹¹. En mamíferos, la elevada expresión de DIII en la placenta controla el paso de la hormona tiroidea materna al feto^{112,113}, y estudios recientes han demostrado la presencia de una elevadísima actividad DIII en el útero, alrededor del sitio de implantación y en las células epiteliales del lumen uterino que rodean la cavidad embrionaria¹¹⁴. Todos estos hallazgos indican que durante el desarrollo embrionario la DIII podría actuar de forma crítica re-

gulando la cantidad de T3 que llega a las células dianas, cumpliendo probablemente un efecto protector para evitar un exceso de hormona que podría interferir con mecanismos básicos del desarrollo. En este sentido, podría quizás interpretarse el hallazgo reciente en nuestro laboratorio de una elevada y específica expresión de DIII en neuronas situadas en áreas involucradas en la diferenciación sexual del cerebro¹⁰⁷. Mientras que en ratas adultas la DIII se expresa de forma débil y difusa por todo el SNC, en la rata recién nacida, y hasta el día posnatal 8 aproximadamente, elevados niveles de expresión de DIII se encuentran en el núcleo del lecho de la estría terminal, la amígdala central y el área preóptica, núcleos que, precisamente en esta etapa crítica, intervienen en la diferenciación psicosexual¹¹⁵.

CONTROL DE LA EXPRESIÓN DE GENES EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL POR LA HORMONA TIROIDEA

Hace unos 10 años no se conocían genes diana de hormona tiroidea en el SNC, e incluso se llegaba a afirmar que posiblemente el cerebro no fuese sensible a estas hormonas. En la actualidad conocemos una serie de genes cuya expresión está regulada por el estado tiroideo durante el desarrollo y unos pocos son sensibles en el cerebro adulto. A continuación se describen brevemente las principales categorías y genes individuales cuya expresión cambia en el hipotiroidismo y tras el tratamiento con hormona tiroidea (fig. 3).

Genes de mielinización

La mielinización la llevan a cabo células gliales especializadas, los oligodendrocitos. Estas células expresan genes muy específicos, entre los que se encuentran proteínas estructurales de la mielina como la proteína proteolipídica (50% del total), proteína básica de mielina (MBP, 30%) y glucoproteína asociada a mielina (MAG, 1%). Además de éstas, los oligodendrocitos expresan fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos (CNP) y enzimas implicadas en la síntesis de lípidos. La hormona tiroidea influye de forma similar en todos estos genes específicos de oligodendrocitos¹¹⁶⁻¹¹⁸. En las ratas normales, la expresión de estos genes comienza en la primera semana posnatal, acumulándose sus productos, ARNm y proteína, a lo largo del primer mes. En las ratas hipotiroideas la velocidad de acumulación de los productos génicos es mucho más lenta, pero finalmente se llega a una concentración normal de los mismos, aunque más tardíamente que en las ratas normales^{117,118}. Así pues, el efecto del hipotiroidismo sobre la expresión de los genes de mielina es un fenómeno transitorio, que se normaliza a lo largo del primer mes de vida, aun en ausencia de tratamiento hormonal sustitutivo. El papel de la hormona tiroidea consiste, por tanto, en acelerar la acumulación de ARNm y proteínas específicas^{6,119}. Sin embargo, a pesar de la normalización de las concentraciones de ARNm y proteínas de mielina, el hipotiroidismo prolongado provoca defectos permanentes de la mielinización, con disminución del número de axones mielinizados¹²⁰.

Varias hipótesis se han planteado para explicar los mecanismos implicados en el control de la expresión de genes de mielina por la hormona tiroidea. El receptor de T3 podría interactuar directamente con secuencias reguladoras en los genes de mielina. En favor de esta hipótesis está el hallazgo de un elemento de respuesta a T3 en el gen que codifica MBP¹²¹. Sin embargo, la hormona tiroidea tiene efectos importantes en el control de la diferenciación de oligodendrocitos¹²²⁻¹²⁴, e incluso se ha propuesto que la T3 es un factor instructivo en las etapas iniciales de generación de oligodendrocitos a partir de las células madre^{125,126}. Puesto que la expresión de los genes de mielina es una propiedad de los oligodendrocitos diferenciados, es posible que el efecto de la hormona tiroidea en la expresión de estos genes sea secundario a una acción primaria sobre la diferenciación de los oligodendrocitos.

Genes mitocondriales

Manipulaciones del estado tiroideo inducen cambios estructurales y bioquímicos de las mitocondrias en determinadas regiones del encéfalo¹²⁷⁻¹²⁹ y se han identificado ARNm mitocondriales, codificados por genes nucleares o mitocondriales, dependientes de la hormona tiroidea. Entre los codificados por genes nucleares están los que codifican las subunidades IV y VIc de la citocromo C oxidasa¹³⁰ y un transportador de proteínas¹³¹. Los genes mitocondriales bajo control tiroideo son los que codifican la subunidad 3 de NADH deshidrogenasa¹³², la subunidad III de la citocromo C oxidasa, y los ARNr 12S y 16S¹³⁰.

Neurotrofinas y sus receptores

Las neurotrofinas regulan la diferenciación y supervivencia neuronal, y están también implicadas en la sinaptogénesis y en el crecimiento dendrítico y axonal. En mamíferos, la familia comprende el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor de crecimiento derivado de cerebro (BDNF), la neurotrofina 3 (NT-3) y la neurotrofina 4/5 (NT-4/5). Estas proteínas son producidas en las dianas neu-

ronales e interaccionan con receptores de membrana con actividad tirosinasa (Trk) de varios tipos: TrkA para NGF, TrkB para BDNF, NT-3 y NT-4/5, y TrkC para NT-3. Además, la proteína p75^{NTR} une todas las neurotrofinas, con baja afinidad. Trk y p75^{NTR} pueden sinergizar o antagonizarse mutuamente, y mientras los receptores Trk inducen supervivencia, p75^{NTR} puede inducir apoptosis^{133,134}.

La hormona tiroidea y el NGF cooperan en el crecimiento de neuronas colinérgicas de los núcleos basales^{21,135}, y de otros grupos celulares del hipocampo, bulbo olfatorio y cerebelo¹³⁶. El hipotiroidismo y el tratamiento con hormona tiroidea influyen en la expresión de NGF, TrkA, y p75^{NTR}, tanto durante el desarrollo como en ratas adultas. NGF y TrkA disminuyen en el hipotiroidismo, mientras que p75^{NTR} aumenta¹³⁷⁻¹⁴¹. Otras neurotrofinas y sus receptores, como NT-3 y NT-4, podrían estar también bajo la influencia de la hormona tiroidea en determinadas poblaciones celulares o períodos limitados del desarrollo^{142,143}.

Las neurotrofinas podrían ser mediadoras de los efectos de las hormonas tiroideas sobre la diferenciación de las células del cerebelo. En este órgano, la migración de las células granulares y la diferenciación de las células de Purkinje son muy dependientes del estado tiroideo. Estos dos fenómenos están muy relacionados, pues a medida que las granulares migran, establecen contactos con las dendritas de las células de Purkinje, cuya arborización dendrítica crece en la capa molecular¹⁴⁴. La hormona tiroidea controla la expresión de BDNF en las células de Purkinje y de NT-3 en las granulares^{142,143,145}. El BDNF y la NT-3 aumentan la supervivencia de las células granulares, y la NT-3 derivada de las células granulares estimula la diferenciación de células de Purkinje. Al igual que en el hipotiroidismo, los ratones *knock out* para BDNF presentan un retraso en la migración de células granulares y una disminución del crecimiento de las células de Purkinje¹⁴⁶.

Componentes del citoesqueleto

El citoesqueleto está formado por tres tipos de estructuras filamentosas: microtúbulos, neurofilamentos (en neuronas) o filamentos intermedios (en células no neuronales) y microfilamentos. La estructura básica de los microtúbulos está constituida por dímeros de subunidades α y β de tubulina, que polimerizan en largos protofilamentos, dispuestos como estructuras tubulares. Las proteínas asociadas a los microtúbulos (MAP) promueven su polimerización y ensamblaje. La tasa de polimerización de la tubulina, en extractos de cerebro de ratas neonatales, está muy disminuida en el hipotiroidismo, y se puede normalizar tras la adición de la proteína Tau, una de las MAPs^{147,148}. Los resultados de estos experimentos hicieron pensar que el hipotiroidismo no alteraba la concentración de tubulina, pero retrasaba la acumulación de Tau. La hormona tiroidea no altera la expresión de Tau¹⁴⁹, pero facilita la transición de la forma juvenil de Tau a la adulta, un cambio que se produce en el *splicing* de ARN^{150,151}.

MAP-1 y MAP-2 están también reguladas por la hormona tiroidea a nivel postranscripcional. El hipotiroidismo retrasa la acumulación de la proteína MAP-2, sin cambios en los ARNm respectivos^{148,149,152}. A pesar de la normalización con el tiempo de la concentración de proteína, aun en ausencia de tratamiento, su localización subcelular queda alterada permanentemente, acumulándose en el cuerpo de las células de Purkinje en lugar de distribuirse a lo largo de las dendritas, como en las ratas normales¹⁵².

La expresión de los genes de tubulina está bajo control tiroideo¹⁵³. Las tubulinas son codificadas por una familia multigénica que origina 6 isotipos α y 5 β , de las que en el

cerebro se expresan $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 2$, $\beta 4$, $\beta 5$ ¹⁵⁴⁻¹⁵⁶. La hormona tiroidea acelera algunos de los cambios que se producen normalmente en el desarrollo, disminución de $\alpha 1$ y $\alpha 2$, y aumento de $\beta 4$, sin alterar la expresión de $\beta 5$ ¹⁵³. Por tanto, las diferencias en la expresión de los distintos isotipos de tubulina entre animales normales e hipotiroideos depende de la edad, siendo más acusadas para $\alpha 1$ durante el período posnatal temprano y para $\beta 4$ al final del mismo. El significado biológico de la regulación de estas isoformas es desconocido, pero se cree que las propiedades de la tubulina dependen del contenido de cada isoforma^{157,158}.

Otros componentes del citoesqueleto se afectan también por el estado tiroideo. El hipotiroidismo prácticamente suprime la expresión de un neurofilamento de 210 kd en los axones de células en cesto del cerebelo¹⁵⁹. En cuanto a los microfilamentos, la hormona tiroidea regula la síntesis de actina y su distribución intracelular en neuroblastos en cultivo primario^{160,161}. La T4 incrementa la polimerización de actina en cultivos de astrocitos. Este efecto, que no se observa con T3, está implicado en la degradación de desyodasa tipo II¹⁶².

Factores de transcripción

NGFI-A (Krox-24, Egr-1 o Zif-268) es uno de los genes tempranos inducibles por NGF en células PC12, o por mitógenos en otros tipos celulares¹⁶³. El hipotiroidismo neonatal induce una disminución de la concentración de este ARNm en algunas regiones cerebrales, normalizándose espontáneamente con el tiempo o tras el tratamiento agudo con T3¹⁶⁴. La administración de T3 *in vivo* estimula directamente el promotor del gen a través de un TRE del tipo DR4¹⁶⁵.

Otro factor de transcripción regulado por la hormona tiroidea es el denominado BTEB, un miembro de la familia Sp1, que regula la actividad del promotor del citocromo P-450IA1 (CYP1A1)¹⁶⁶. Se identificó como un gen regulado por la hormona tiroidea por primera vez en el diencéfalo del renacuajo y posteriormente en el cerebro de rata¹⁶⁷. El patrón de regulación por la hormona tiroidea es similar al de otros genes regulados en el SNC; es decir, es dependiente de la hormona sólo durante el período neonatal, y el efecto del hipotiroidismo consiste en un retraso en la acumulación del ARNm y proteína. T3 regula la expresión de BTEB en la transcripción en células N2a en cultivo que expresan TR β 1, pero no en las que expresan TR α 1¹⁶⁷.

ROR α es un factor de transcripción de la familia de receptores huérfanos RZR/ROR¹⁶⁸ que se une, como monómero, a secuencias de ADN compartidas con revErB¹⁶⁹. *ROR α* está presente en varias regiones del encéfalo y se expresa de forma abundante en las células de Purkinje¹⁷⁰. La disrupción de este gen en el ratón produce el fenotipo *staggerer*¹⁷¹, caracterizado por profundas alteraciones de la diferenciación de las células de Purkinje y de la migración de células granulares. Estas anomalías son similares a las que se observan en el hipotiroidismo y, de hecho, la acumulación de los transcritos de *ROR α* está retrasada en los animales hipotiroideos¹⁷². No se sabe si *ROR α* es regulado directa o indirectamente por la hormona tiroidea.

Reguladores de *splicing*

Además de la regulación del *splicing* de transcritos primarios del gen *tau*, mencionado anteriormente, la hormona tiroidea regula el *splicing* de otros ARN como el de tenascina-C¹⁷³ y la β -amiloides¹⁷⁴, lo que plantea la posibilidad de que la hormona tiroidea regule la concentración de proteínas implicadas en mecanismos de *splicing*. Al menos un regulador de *splicing*, el denominado SmN, es regulado por la hormona tiroidea en células cardíacas en cultivo¹⁷⁵. En el

cerebro de rata, el hipotiroidismo causa una expresión anormal de una proteína homóloga del regulador de *splicing* de *Drosophila suppressor-of-white-apricot* (SWAP)¹⁷⁶. La regulación de *splicing* representa un mecanismo nuevo de acción de la hormona tiroidea, y sería necesario conocer si otros factores de *splicing* están bajo control tiroideo y el impacto fisiológico de dicha regulación.

Proteínas de matriz extracelular y moléculas de adhesión

Las proteínas de matriz extracelular y de adhesión son muy importantes en el desarrollo del SNC, pues actúan como guías para la migración celular y el crecimiento axonal. Se cree que las proteínas de matriz extracelular secretadas por astrocitos, como laminina y tenascina, forman "corredores" por donde las neuronas migran y los axones se dirigen a sus dianas. Las neuronas interaccionan con estas proteínas extracelulares mediante proteínas de membrana como las integrinas. Por otro lado, la moléculas de adhesión celular intervienen en muchos procesos del desarrollo, como promoción del crecimiento de neuritas, fasciculación de axones y diferenciación presináptica.

Las moléculas de adhesión NCAM¹⁷⁷ y L1¹⁷⁸, así como las proteínas extracelulares, tenascina C¹⁷³ y Reelin¹⁵, están bajo control tiroideo. NCAM, L1 y tenascina C tienen altos niveles de expresión en el embrión, y disminuyen durante el desarrollo posnatal. Esta disminución está retrasada en el encéfalo de animales hipotiroideos. La proteína Reelin, esencial para migraciones neuronales, se regula por la hormona tiroidea en la corteza, el hipocampo y el cerebelo.

Genes que codifican proteínas de señalización intracelular

RC3/neurogranina es una proteína postsináptica de 78 aminoácidos, específica de neuronas, que une calmodulina y es sustrato de PKC^{179,180}. Esta proteína está implicada en fenómenos de plasticidad sináptica mediante la regulación de la actividad de las dianas moleculares de calmodulina como calmodulina cinasa II¹⁸¹. La hormona tiroidea es necesaria para la expresión normal de esta proteína en regiones concretas del cerebro, como la capa VI de la neocorteza, capa granular del hipocampo y núcleo estriado¹⁸². La secuencia de la proteína humana es prácticamente idéntica a la de la rata, y el gen humano posee un TRE del tipo DR4 en el primer intrón¹⁸³. RC3 es sensible a la hormona tiroidea en el estriado de ratas adultas¹⁸⁴.

La cinasa IV dependiente de calmodulina (CaMKIV) se activa por Ca²⁺ y calmodulina (CaM). Se localiza principalmente en el núcleo celular, donde regula la expresión génica mediante fosforilación de CREB y del factor de respuesta a suero¹⁸⁵. La CaMKIV se expresa principalmente en las células granulares del cerebelo¹⁸⁶. La implicación de la hormona tiroidea en su expresión se ha estudiado *in vitro* pero no *in vivo*¹⁸⁷. Una propiedad interesante de esta enzima, a la vista de los efectos de la hormona tiroidea en el desarrollo del cerebelo, es que aumenta la transactivación por TR α ¹⁸⁸.

Rhes (*Ras homologue enriched in striatum*)¹⁸⁹ es una nueva proteína de la familia Ras, muy enriquecida en el núcleo estriado. Posee un alto grado de homología con Dexas-1, una proteína Ras inducible por dexametasona en el hígado de ratón¹⁹⁰. El hipotiroidismo neonatal deprime las concentraciones de ARN Rhes en el estriado, mientras que el tratamiento con hormona tiroidea revierte el efecto¹⁸⁹. No sabemos aún nada de sus características bioquímicas, ni de las consecuencias fisiológicas de su regulación por T3.

La sintasa de prostaglandina D2 (PGD2S)¹⁹¹ produce prostaglandina D2 (PGD2) a partir de prostaglandina H2 y

es una de las proteínas más abundantes del LCR. La prostaglandina D2 tiene múltiples acciones, entre ellas la regulación de la temperatura corporal, inducción de sueño y control de la sensibilidad al dolor. Además, la PGD2 es un precursor de ligandos para los receptores de proliferadores de peroxisomas, que regulan genes implicados en el metabolismo lipídico. El hipotiroidismo neonatal ocasiona cambios complejos de las concentraciones del ARN y la proteína en diversas regiones del encéfalo¹⁴ y se han descrito TRE en los genes humano y de rata^{192,193}. En la capa I de la corteza las células de Cajal-Retzius expresan PGD2S en los animales normales, pero no en los hipotiroideos. Recordemos que estas células están implicadas en la formación de las capas de la neocorteza y expresan otro gen, el de Reelin, que es también regulado por la hormona tiroidea.

Regulación de la expresión génica en cerebelo

El cerebelo muestra más claramente que cualquier otra región del SNC los defectos estructurales ocasionados por la deficiencia de la hormona tiroidea, y que son debidos a alteraciones en la diferenciación y migración celulares. Entre los primeros intentos de encontrar genes del SNC sensibles a la hormona tiroidea, Oppenheimer et al encontraron que el gen *PCP2* (*Purkinje cell protein 2*)¹⁹⁴ estaba regulado por el estado tiroideo en las células de Purkinje¹¹⁹. Este gen, específico de las células de Purkinje, codifica una proteína de función desconocida. Su expresión es posnatal, acumulándose el ARNm y la proteína progresivamente hasta P15-P20. En animales hipotiroideos la acumulación es más lenta, por lo que los títulos eutiroideos no se alcanzan hasta después de P30-P40. El patrón es similar al descrito para genes de mielina, de forma que los valores normales llegan a alcanzarse en animales hipotiroideos, aun en ausencia de tratamiento hormonal sustitutivo. Este fenómeno puede ser debido al hecho, ya discutido en el caso de la mielina, de que la expresión de determinados genes sólo ocurre en células diferenciadas, y que el papel de la hormona tiroidea consiste en facilitar la diferenciación terminal de estas células.

Sin embargo, se han identificado elementos de respuesta a T3 en la región promotora y en el primer intrón del gen, lo que apunta a un efecto directo de T3 sobre la expresión de este gen¹⁹⁵. Además de los TRE, se ha descrito un elemento silenciador que bloquea la respuesta a T3, localizado junto al TRE en el promotor de *PCP2*¹⁹⁶. Este elemento une proteínas nucleares abundantes en el cerebro fetal, entre ellas el factor de transcripción COUP-TF¹⁹⁷. Basándose en estos hallazgos, el grupo de Oppenheimer ha postulado que la expresión de *PCP2* sería modulada por influencias antagónicas entre el receptor de T3 y proteínas como COUP-TF. Al disminuir la concentración de estas proteínas inhibitoras, se facilitaría la actividad transcripcional directamente por el receptor de T3, aun en ausencia del ligando⁶, lo que proporcionaría una explicación para el patrón de expresión de genes como *PCP2* y genes de mielina en animales hipotiroideos.

En las células granulares, la expresión *hairless* y de un homólogo de sinaptotagmina están reguladas positivamente por hormona tiroidea¹⁹⁸. Ambos genes responden de forma rápida a la administración aguda de T3, y *hairless* contiene un TRE. La proteína Hairless es un represor transcripcional que heterodimeriza con TR, pero el significado de esta interacción es desconocido. Hemos citado en otros apartados otros genes que son también regulados por hormona tiroidea en el cerebelo, como genes de mielina,¹⁵⁹ actina¹⁹⁹, la subunidad I de la citocromo-C oxidasa²⁰⁰, laminina²⁰¹, tubulina^{139,153}, p75^{NTR139,140,143}, Reelin¹⁵, tenascina C¹⁷³ y *RORα*¹⁷².

PAPEL DE LOS RECEPTORES DE T3: ESTUDIOS EN RATONES MUTANTES NULOS

La existencia de varias isoformas del receptor de T3, con diferentes patrones de expresión temporal y regional, hace pensar que podrían tener funciones específicas. En un intento de definir estas funciones se han generado ratones mutantes nulos del receptor de T3²⁰². La delección de *TRβ1* fue la primera que se consiguió y se le prestó una atención especial porque su acumulación en el encéfalo ocurre en paralelo a la activación de genes sensibles a la hormona tiroidea, especialmente las de mielina. Por tanto, se sospechó que este subtipo de receptor estaría directamente implicado en la inducción de dichos genes. Sin embargo, en ratones deficientes del gen *TRβ* no se altera la expresión de MBP o de *PCP2*²⁰³. Estos ratones sufren sordera, pero no presentan anomalías obvias en el desarrollo del SNC^{204,205}. La inactivación de *TRα1* ocasiona alteraciones de la función cardíaca, pero no del SNC. La delección completa del gen *TRα* tampoco ocasiona anomalías obvias en el SNC, aunque sí se altera el desarrollo de otros órganos como el intestino, huesos y tiroides²⁰⁶.

Una de las explicaciones de la falta de anomalías del SNC en estas líneas de ratones mutantes es que, en ausencia de un tipo de receptor, habría mecanismos compensadores por parte de los otros tipos que permanecerían intactos. Aunque en muchos casos la redundancia de función de los receptores es una realidad, la deficiencia de todas las formas de receptor de T3 tampoco ocasiona defectos obvios en el desarrollo del SNC²⁰⁷.

El hecho de que la deficiencia de receptores no dé lugar a las deficiencias profundas del desarrollo ocasionadas por el hipotiroidismo no se entiende bien actualmente, y se han formulado algunas hipótesis para explicar esta paradoja²⁰². Entre ellas, la más atractiva es la que sostiene que las manifestaciones del hipotiroidismo se deberían, más que a la ausencia de T3 *per se*, a la acción fuertemente represora de los receptores en ausencia del ligando. En ausencia de la hormona, los receptores intactos ejercerían una fuerte acción represora sobre genes diana, que no ocurriría en ausencia de los receptores.

Por otro lado, algunos datos apuntan a la existencia de funciones fisiológicas específicas de las isoformas de T3, aparte de la implicación de *TRβ* en la función auditiva que hemos comentado anteriormente. De hecho, hay razones para pensar que, al margen de los efectos fisiológicos clásicos bien conocidos de las hormonas tiroideas, los receptores estarían implicados en funciones muy sutiles, desconocidas e insospechadas. Por poner un ejemplo, *TRα1* y *TRβ* están implicados de forma antagónica en la regulación de la conducta sexual. La ausencia de *TRα* reduce la conducta sexual en hembras, mientras que la ausencia de *TRβ* la estimula²⁰⁸.

ASPECTOS CLÍNICOS DE LA DEFICIENCIA DE HORMONA TIROIDEA DURANTE EL DESARROLLO NEURAL

Cretinismo endémico

La deficiencia de yodo ocasiona un amplio espectro de anomalías que comprenden una alta incidencia de abortos espontáneos y nacidos muertos, aumento de la mortalidad infantil, cretinismo, bocio e hipotiroidismo neonatal, así como trastornos mentales y psicomotores²⁰⁹. El término "cretinismo" apareció por primera vez en descripciones de habitantes de regiones alpinas de Europa y el Himalaya²¹⁰, y debe reservarse para denominar al síndrome caracterizado por deficiencia mental como consecuencia de un escaso aporte de yodo en la dieta, por debajo de 25 µg/día. Se dis-

tinguen dos formas de cretinismo, denominados por McCarrison²¹¹ neurológico y mixedematoso. El cretinismo neurológico se caracteriza por retraso mental, sordomudez y diplejía espástica²¹². No hay diferencias en los títulos de hormona tiroidea circulantes entre la población cretina y la no cretina. La glándula tiroidea es normal y no hay síntomas de hipotiroidismo. El cretinismo mixedematoso²¹³ se debe a la destrucción de la glándula tiroidea, posiblemente por la combinación de deficiencia de yodo, ingestión de bociógenos y déficit de selenio^{214,215}. Se caracteriza por ausencia de síntomas neurológicos y presencia de signos de hipotiroidismo, como baja estatura y anomalías craneofaciales. La deficiencia mental no es tan profunda como en el cretinismo neurológico. El tratamiento con yodo a partir de los últimos meses de embarazo es capaz de prevenir el cretinismo mixedematoso, pero para prevenir el neurológico es necesario administrar yodo antes del embarazo o durante el primer trimestre²¹⁶.

La patogenia del cretinismo neurológico se explica en función de lo dicho anteriormente sobre la transferencia placentaria de hormona tiroidea y la presencia de los receptores de T3 en el cerebro fetal humano a partir del final del primer trimestre de gestación. Todo apunta a que la hormona de procedencia materna llega al cerebro fetal uniéndose a los receptores ya durante el segundo trimestre, cuando aún la contribución tiroidea del feto es escasa. Así pues, el cretinismo neurológico se debería a la profunda hipotiroxinemia materna causada por la deficiencia de yodo en la primera mitad del embarazo, mientras que el cretinismo mixedematoso sería consecuencia del fallo del tiroides del feto y recién nacido. En estos casos, al igual que en el hipotiroidismo congénito, como veremos a continuación, la hormona materna puede tener un papel protector durante el embarazo.

Hipotiroidismo congénito

El hipotiroidismo congénito tiene una incidencia relativamente alta, un caso en 3.000-4.000 nacidos vivos²¹⁷, y es la causa más frecuente de deficiencia mental prevenible, lo que impulsó en su día la implantación de métodos de detección temprana (cribado neonatal) basados en la determinación de TSH y/o T4 en sangre del talón de recién nacidos²¹⁸. Las causas más frecuentes de hipotiroidismo congénito permanente son, por este orden, la ectopia, agenesia e hipoplasia glandulares, y los trastornos congénitos de la síntesis de la hormona tiroidea. En los últimos dos años se han identificado algunas causas genéticas de agenesia, ectopias e hipoplasia glandulares, entre las cuales cabe citar las mutaciones del gen *Pax-8* y del receptor de TSH y de los factores de transcripción tiroideos TTF-1 y TTF-2²¹⁹⁻²²². El tratamiento posnatal temprano con hormona tiroidea es eficaz en la mayoría de los casos, aunque a veces pueden permanecer secuelas neurológicas, como trastornos del aprendizaje y de la coordinación motora. La eficacia del tratamiento depende no sólo de la precocidad del mismo, sino de la edad de inicio y la gravedad de la deficiencia hormonal. El peor pronóstico corresponde a las agenesias totales. En estos casos, la única fuente de hormona tiroidea para el cerebro fetal es la materna, por lo que la hipotiroxinemia materna puede desempeñar un papel adicional en la patogenia del síndrome. Es importante la determinación de la edad ósea y de la T4 plasmática en el momento del diagnóstico para identificar a los niños con riesgo de desarrollar alteraciones neurológicas, ya que el tratamiento con dosis elevadas de T4 puede estar indicado en estos casos²²³.

Hipotiroxinemia materna

La importancia de la hormona tiroidea materna para el feto se pone más claramente de manifiesto cuando al hipoti-

roidismo fetal se le asocia una hipotiroxinemia materna profunda. En estos casos se desarrollan sordera sensorineural permanente y alteraciones irreversibles del desarrollo neuromotor, a pesar del tratamiento temprano con hormona tiroidea después del nacimiento, lo que indica un daño ya irreversible acontecido durante el desarrollo del cerebro fetal. Casos de este tipo se han descrito en la deficiencia del factor de transcripción hipofisario Pit-1²²⁴, o cuando existen títulos altos de anticuerpos bloqueadores del tiroides en la sangre materna^{225,226}. En estas circunstancias, se desarrolla un hipotiroidismo profundo materno y fetal, con hormonas circulantes indetectables.

Ahora bien, ¿cuál es el impacto de la hormona tiroidea de origen materno en el cerebro del feto en presencia de un tiroides fetal normal? Es bien sabido que el hipotiroidismo materno ocasiona muchos problemas gestacionales (aumento de la incidencia de abortos, riesgo de preeclampsia, prematuridad, bajo peso del recién nacido, etc.)⁹. El problema estriba en delimitar el papel de la hormona tiroidea materna en ausencia de hipotiroidismo materno, puesto que la hipotiroxinemia aislada no tiene por qué acompañarse de hipotiroidismo. Esta situación se da frecuentemente en la deficiencia moderada de yodo²²⁷, y se debe a la puesta en marcha de mecanismos reguladores que mantienen normal la concentración de T3 en plasma y tejidos, a pesar de una disminución de la T4. Entre estos mecanismos están un aumento de flujo sanguíneo tiroideo, el incremento preferente de la secreción de T3 por el tiroides y la mayor producción periférica de T3 por incremento de la actividad de la desyodasa tipo II. De hecho, el hipotiroidismo durante el embarazo, que es debido fundamentalmente a enfermedad autoinmune, tiene una incidencia de alrededor del 2,5%. En cambio, la hipotiroxinemia es mucho más frecuente; por ejemplo, datos de Glinoeer²²⁸ en Bruselas señalan que el 30% de las embarazadas tienen la T4 baja durante el primer trimestre, mientras que la TSH elevada (indicativa de hipotiroidismo clínico o subclínico) está presente sólo en el 2,3%.

Estudios retrospectivos recientes de Haddow et al²²⁹ han demostrado que, a los 7-9 años, los niños nacidos de madres con TSH elevada durante el segundo trimestre de embarazo, pero sin síntomas obvios de hipotiroidismo, consiguieron menor puntuación que los niños nacidos de madres con TSH normal en tests de inteligencia, atención, rendimiento visual-motor y escolar, con una reducción de 4 puntos en el IQ. Así pues, se plantearía la necesidad de medir TSH en todas las embarazadas, aunque hay que tener en cuenta, por lo dicho en el párrafo anterior, que esta medida sólo detectaría a un porcentaje bajo de la población de riesgo^{9,230}. Puesto que la causa más frecuente de hipotiroxinemia es la deficiencia de yodo, hay que tener en cuenta que durante el embarazo se producen cambios (aumento de TBG y del aclaramiento renal del yodo, así como las propias necesidades del feto) que incrementan las necesidades de este oligoelemento. Esto hace que, aun cuando la población en general reciba un aporte normal de yodo, éste es a menudo insuficiente durante el embarazo y la lactancia, lo que plantea la necesidad de un aporte adicional en estas situaciones.

Prematuridad

Aproximadamente el 85% de los prematuros presentan una notable hipotiroxinemia que se mantiene a lo largo de varias semanas²³¹ y se debe a la interrupción brusca del aporte materno en etapas en las que el tiroides fetal es aún inmaduro²³². Algunos autores como Fisher opinan que la hipotiroxinemia de los prematuros, en ausencia de hipotiroidismo primario o secundario, es "fisiológica" y no necesita tratamiento hormonal²³³. En contra de esta opinión está el

hecho de que las cifras de T4 libre de niños prematuros son más bajas que las de fetos de la misma edad *in utero*²³⁴⁻²³⁶. Algunos estudios han demostrado que la hipotiroxinemia es un factor independiente de riesgo de alteraciones del desarrollo mental²³⁷, e incluso de parálisis cerebral^{238,239}, lo que plantea la oportunidad del tratamiento con T4. Aunque se han realizado estudios en este sentido, los hallazgos no son concluyentes^{240,241}.

CONCLUSIONES

En los últimos 10 años hemos avanzado notablemente en la comprensión del papel de la hormona tiroidea en el desarrollo neural. Se han delimitado los mecanismos fisiológicos reguladores de la concentración de hormona activa T3 en el tejido nervioso y su interacción con los receptores. Se ha identificado una batería de genes cuya expresión depende de un aporte adecuado de hormona, pero aún queda por definir el impacto de la regulación de estos genes en el fenotipo inducido por la hormona. El papel central de T3 se refleja en la existencia de múltiples mecanismos que regulan de forma precisa su concentración en el tejido nervioso, entre los que están las desyodasas II y III. Los patrones de expresión de estas enzimas inducen a pensar en acciones fisiológicas de la hormona tiroidea aún desconocidas, distintas de los efectos fisiológicos clásicos. Otro tanto puede decirse de los receptores; además de las acciones debidas a la interacción con la T3, los receptores tienen acciones independientes del ligando, de las cuales sólo unas pocas han podido ser definidas. Para el estudio del papel de los receptores los animales *knock out* para las distintas formas de receptor son un material muy valioso, pero en lo que respecta al SNC, la suavidad del fenotipo obtenido en ausencia de los receptores, en comparación con el observado en circunstancias de déficit hormonal, plantea paradojas aún por resolver.

Finalmente, desde el punto de vista clínico, está quedando mucho más claro el papel de la hormona materna en la protección del cerebro del feto, y se abre camino la sospecha de que alteraciones del desarrollo neural debidas a hipotiroxinemia materna son más comunes de lo que se pensaba. Los resultados de estudios epidemiológicos apoyan la necesidad de una vigilancia especial desde los primeros meses de embarazo.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental en el laboratorio ha sido posible gracias a ayudas concedidas por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, la Fundación Ramón Areces, la Comunidad de Madrid y la Comunidad Europea. La búsqueda e identificación de genes regulados por la hormona tiroidea en el cerebro se ha realizado en colaboración con el Dr. Alberto Muñoz, del mismo Instituto. El autor agradece el excelente trabajo experimental de M. Álvarez-Dolado, A. Cuadrado, R. de Abajo, M.J. Escámez, L.F. García-Fernández, A. Guadaño-Ferraz, M.A. Íñiguez, J. Manzano, B. Morte, P. Vargiu, y la asistencia técnica de G. Chacón, así como las aportaciones conceptuales de las Dras. G. Morreale y M.J. Obregón.

BIBLIOGRAFÍA

- Morreale de Escobar G, Escobar del Rey F, Ruiz-Marcos A. Thyroid hormone and the developing brain. En: Dussault JH, Walker P, editores. Congenital hypothyroidism. Nueva York: Marcel Decker, Inc., 1983; 85-126.

- Bernal J, Núñez J. Thyroid hormones and brain development. Eur J Endocrinol 1995; 133: 390-398.
- Bernal J, Guadaño-Ferraz A. Thyroid hormone and the development of the brain. Curr Op Endocrinol Diabetes 1998; 5: 296-302.
- Muñoz A, Bernal J. Biological activities of thyroid hormone receptors. Eur J Endocrinol 1997; 137: 433-445.
- Legrand J. Effects of thyroid hormones on central nervous system. En: Yanai J, editor. Neurobehavioral teratology. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984; 331-363.
- Oppenheimer JH, Schwartz HL. Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. Endocr Rev 1997; 18: 462-475.
- Porterfield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development: current perspectives. Endocr Rev 1993; 14: 94-106.
- Hollowell JG Jr, Hannon WH. Teratogen update: iodine deficiency, a community teratogen. Teratology 1997; 55: 389-405.
- Morreale de Escobar G, Obregón MJ, Escobar del Rey F. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism, or to maternal hypothyroxinemia? J Clin Endocrinol Metab 2000; 85: 3975-3987.
- Holt AB, Renfree MB, Chek DB. Comparative aspects of brain growth: a critical evaluation of mammalian species used in brain growth research with emphasis on the Tamar wallaby. En: Hetzel BS, Smith RM, editores. Fetal brain disorders. Recent approaches to the problem of mental deficiency. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1981; 17-43.
- Nicholson JL, Altman J. The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of the rat cerebellar cortex. I. Cell proliferation and differentiation. Brain Res 1972; 44: 13-23.
- Marin-Padilla M. Three-dimensional structural organization of layer I of the human cerebral cortex: a Golgi study. J Comp Neurol 1990; 299: 89-105.
- Caviness VS Jr, Sidman RL. Time of origin or corresponding cell classes in the cerebral cortex of normal and reeler mutant mice: an autoradiographic analysis. J Comp Neurol 1973; 148: 141-151.
- García-Fernández LF, Rausell E, Urade Y, Hayaishi O, Bernal J, Muñoz A. Hypothyroidism alters the expression of prostaglandin D2 synthase/beta trace in specific areas of the developing rat brain. Eur J Neurosci 1997; 9: 1566-1573.
- Álvarez-Dolado M, Ruiz M, Del Rio JA, Alcántara S, Burgaya F, Sheldon M et al. Thyroid hormone regulates reelin and *dab1* expression during brain development. J Neurosci 1999; 19: 6979-6973.
- Gravel C, Hawkes R. Maturation of the corpus callosum of the rat: I. Influence of thyroid hormones on the topography of callosal projections. J Comp Neurol 1990; 291: 128-146.
- Berbel P, Guadano-Ferraz A, Martínez M, Quiles JA, Balboa R, Innocenti GM. Organization of auditory callosal connections in hypothyroid adult rats. Eur J Neurosci 1993; 5: 1465-1478.
- Lucio RA, García JV, Ramón Cerezo J, Pacheco P, Innocenti GM, Berbel P. The development of auditory callosal connections in normal and hypothyroid rats. Cereb Cortex 1997; 7: 303-316.
- Lavado R, Ansó E, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G, Berbel P. Hypothyroxinemia, induced by a low iodine diet, alters cortical cell migration in rats: an experimental model for human neurological cretinism. Federation of the European Neuroscience Societies (FENS) 2000. Brighton, 2000.
- Legrand J. Analyse de l'action morphogénétique des hormones thyroïdiennes sur le cervelet du jeune rat. Arch Anat Microsc Morphol Exp 1967; 56: 205-244.
- Gould E, Butcher LL. Developing cholinergic basal forebrain neurons are sensitive to thyroid hormone. J Neurosci 1989; 9: 3347-3358.
- Gravel C, Sasseville R, Hawkes R. Maturation of the corpus callosum of the rat: II. Influence of thyroid hormones on the number and maturation of axons. J Comp Neurol 1990; 291: 147-161.
- Gould E, Allan MD, McEwen BS. Dendritic spine density of adult hippocampal pyramidal cells is sensitive to thyroid hormone. Brain Res 1990; 525: 327-329.
- Ruiz-Marcos A, Cartagena P, García A, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Rapid effects of adult-onset hypothyroidism on dendritic spines of pyramidal cells of the rat cerebral cortex. Exp Brain Res 1988; 73: 583-588.
- Balazs R, Brooksbank BWL, Davison AN, Eayrs JT, Wilson DA. The effect of neonatal thyroidectomy on myelination in the rat brain. Brain Res 1969; 15: 219-232.
- Malone MJ, Rosman NP, Szoke M, Davis D. Myelination of brain in experimental hypothyroidism. An electron-microscopic and biochemical study of purified myelin isolates. J Neurol Sci 1975; 26: 1-11.
- Noguchi T, Sugisaki T. Hypomyelination in the cerebrum of the congenitally hypothyroid mouse (hyt). J Neurochem 1984; 42: 891-893.
- Adamo AM, Aloise PA, Soto EF, Pasquini JM. Neonatal hyperthyroidism in the rat produces an increase in the activity of microperoxisomal marker enzymes coincident with biochemical signs of accelerated myelination. J Neurosci Res 1990; 25: 353-359.
- Berbel P, Guadaño-Ferraz A, Angulo A, Cerezo JR. Role of thyroid hormones in the maturation of interhemispheric connections in rat. Behav Brain Res 1994; 64: 9-14.
- Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone. Thyroid 1999; 6: 497-504.

31. Ribeiro RCJ, Appriletti 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.
32. Wolffe AP, Collingwood TN, Li Q, Yee J, Urnov F, Shi YB. Thyroid hormone receptor, v-ErbA, and chromatin. *Vitam Horm* 2000; 58: 449-492.
33. Izumo S, Mahdavi V. Thyroid hormone receptor alpha isoforms generated by alternative splicing differentially activate myosin HC gene transcription. *Nature (Lond)* 1988; 334: 539-542.
34. Lazar MA, Hodin RA, Darling DS, Chin WW. A novel member of the thyroid/steroid hormone receptor family is encoded by the opposite strand of the rat c-erbA alpha transcriptional unit. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 1128-1136.
35. Miyajima N, Horiuchi R, Shibuya Y, Fukushige S, Matsubara K, Toyoshima K et al. Two erbA homologs encoding proteins with different T3 binding capacities are transcribed from opposite ADN strands of the same genetic locus. *Cell* 1989; 57: 31-39.
36. Williams GR. Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptor beta isoforms. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 8329-8342.
37. Chassande O, Fraichard A, Gauthier K, Flamant F, Legrand C, Savatier P et al. Identification of transcripts initiated from an internal promoter in the c-erbA alpha locus that encode inhibitors of retinoic acid receptor- alpha and triiodothyronine receptor activities. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1278-1290.
38. Sap J, Muñoz A, Schmitt J, Stunnenberg H, Vennström B. Repression of transcription mediated at a thyroid hormone response element by the v-erbA oncogene product. *Nature* 1989; 340: 242-244.
39. McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev* 1999; 20: 321-344.
40. Lemon BD, Freedman LP. Nuclear receptor cofactors as chromatin remodelers. *Curr Opin Genet Devel* 1999; 9: 499-504.
41. Li Q, Sachs L, Shi YB, Wolffe AP. Modification of chromatin structure by the thyroid hormone receptor. *Trends Endocrinol Metab* 1999; 10: 157-164.
42. Burke LJ, Baniahmad A. Co-repressors 2000. *FASEB J* 2000; 14: 1876-1888.
43. Perissi V, Staszewski LM, McInerney EM, Kurokawa R, Krones A, Rose DW et al. Molecular determinants of nuclear receptor-corepressor interaction. *Genes Dev* 1999; 13: 3198-3208.
44. Pérez-Castillo A, Bernal J, Ferreira B, Pans T. The early ontogenesis of thyroid hormone receptor in the rat fetus. *Endocrinology* 1985; 117: 2457-2461.
45. Strait KA, Schwartz HL, Perezcastillo A, Oppenheimer JH. Relationship of c-erbA Messenger RNA content to tissue triiodothyronine nuclear binding capacity and function in developing and adult rats. *J Biol Chem* 1990; 265: 10514-10521.
46. Ferreira B, Pastor R, Bernal J. T3 receptor occupancy and T3 levels in plasma and cytosol during rat brain development. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1990; 123: 95-99.
47. Iskaros J, Pickard M, Evans I, Sinha A, Hardiman P, Ekins R. Thyroid hormone receptor gene expression in first trimester human fetal brain. *J Clin Endocrinol Metabol* 2000; 85: 2620-2623.
48. Bernal J, Pekonen F. Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the human fetal brain. *Endocrinology* 1984; 114: 677-679.
49. Pintar JE. Normal development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. En: Braverman LE, Utiger RD, editores. *Werner and Ingbar's the thyroid, a fundamental and clinical text*. Filadelfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000; 7-19.
50. Ferreira B, Bernal J, Goodyer CG, Branchard CL. Estimation of nuclear thyroid hormone receptor saturation in human fetal brain and lung during early gestation. *J Clin Endocrinol Metabol* 1988; 67: 853-856.
51. Ferreira B, Bernal J, Potter BJ. Ontogenesis of thyroid hormone receptor in fetal lambs. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1987; 116: 205-210.
52. Darras VM, Hume R, Visser TJ. Regulation of thyroid hormone metabolism during fetal development. *Mol Cell Endocrinol* 1999; 25: 37-47.
53. Croteau W, Davey JC, Galton VA, St. Germain DL. Cloning of the mammalian type II iodothyronine deiodinase: a selenoprotein differentially expressed and regulated in the human brain and other tissues. *J Clin Invest* 1996; 98: 405-417.
54. 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.
55. Forrest D, Hallbook F, Persson H, Vennstrom B. Distinct functions for thyroid hormone receptors-alpha and receptor-beta in brain development indicated by differential expression of receptor genes. *EMBO J* 1991; 10: 269-275.
56. 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.
57. Hodin RA, Lazar MA, Wintman BI, Darling DS, Koenig RJ, Larsen PR et al. Identification of a thyroid hormone receptor that is pituitary-specific. *Science (Wash)* 1989; 244: 76-79.
58. Schwartz HL, Lazar MA, Oppenheimer JH. Widespread distribution of immunoreactive thyroid hormone b2 receptor (TRb2) in the nuclei of extrapituitary rat tissues. *J Biol Chem* 1994; 269: 24777-24782.
59. Lechan RM, Qi Y, Berrodin TJ, Davis KD, Schwartz HL, Strait KA et al. Immunocytochemical delineation of thyroid hormone receptor b2-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *Endocrinology* 1993; 132: 2461-2469.
60. Ercan-Fang S, Schwartz HL, Oppenheimer JH. Isoform specific 3,5,3'-triiodothyronine receptor binding capacity and messenger ribonucleic acid content in rat adenohypophysis: effect of thyroidal state and comparison with extrapituitary tissues. *Endocrinology* 1996; 137: 3228-3233.
61. Luo M, Faure R, Dussault JH. Ontogenesis of nuclear T3 receptors in primary cultured astrocytes and neurons. *Brain Res* 1986; 381: 275-280.
62. Yusta B, Besnard F, Ortiz-Caro J, Pascual A, Aranda A, Sarlieve L. Evidence for the presence of nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptors in secondary cultures of pure rat oligodendrocytes. *Endocrinology* 1988; 122: 2278-2284.
63. Carlson DJ, Strait KA, Schwartz HL, Oppenheimer JH. Immunofluorescent localization of thyroid hormone receptor isoforms in glial cells of rat brain. *Endocrinology* 1994; 135: 1831-1836.
64. Mallol J, Obregón MJ, Morreale de Escobar G. Analytical artifacts in radioimmunoassay of L-thyroxine in human milk. *Clin Chem* 1982; 28: 1277-1282.
65. Woods RJ, Sinha AK, Ekins RP. Uptake and metabolism of thyroid hormones by the rat foetus early in pregnancy. *Clin Sci* 1984; 67: 359-363.
66. Obregón MJ, Mallol J, Pastor R, Morreale de Escobar G, Escobar del Rey G. L-thyroxine and 3,3',5-triiodo-L-thyronine in rat embryos before onset of fetal thyroid function. *Endocrinology* 1984; 114: 305-307.
67. Morreale de Escobar G, Pastor R, Obregón MJ, Escobar del Rey F. Effects of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues. *Endocrinology* 1985; 117: 1890-1901.
68. Morreale de Escobar G, Obregón MJ, Escobar del Rey F. Fetal and maternal thyroid hormones. *Horm Res* 1987; 26: 12-27.
69. Porterfield SP, Hendrich CE. Tissue iodothyronine levels in fetuses of control and hypothyroid rats at 13 and 16 days gestation. *Endocrinology* 1992; 131: 195-200.
70. Morreale de Escobar G, Calvo R, Obregón MJ, Escobar del Rey F. Contribution of maternal thyroxine to fetal thyroxine pools in normal rats near term. *Endocrinology* 1990; 126: 2765-2767.
71. Myant NB. Passage of thyroxine and tri-iodothyronine from mother to fetus in pregnant women. *Clin Sci* 1958; 17: 75-79.
72. Grümbach MM, Werner SC. Transfer of thyroid hormone across the human placenta at term. *J Clin Endocrinol Metab* 1956; 16: 1392-1395.
73. 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.
74. Contempère B, Jauniaux É, Calvo R, Jurkovic D, Campbell S. Morreale de Escobar G. Detection of thyroid hormones in human embryonic cavities during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metabol* 1993; 77: 1719-1722.
75. Laterra J, Goldstein GW. Ventricular organization of cerebrospinal fluid: blood-brain barrier, brain edema and hydrocephalus. En: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editores. *Principles of neural science*. Nueva York: McGraw-Hill, 2000; 1288-1301.
76. Chanoine J-P, Alex S, Fang SL, Stone S, Leonard JL, Köhrle J et al. Role of transthyretin in the transport of thyroxine from the blood to the choroid plexus, the cerebrospinal fluid, and the brain. *Endocrinology* 1992; 130: 933-938.
77. Kendall JW, Jacobs JJ, Kramer RM. Studies on the transport of hormones from the cerebrospinal fluid to hypothalamus and pituitary. Brain-endocrine interaction. Median eminence: structure and function. München: Karger, Basel, 1972; 1971: 342-349.
78. Dratman MB, Crutchfield FL, Schoenhoff MB. Transport of iodothyronines from bloodstream to brain: contributions by blood: brain and choroid plexus: cerebrospinal fluid barriers. *Brain Res* 1991; 554: 229-236.
79. Dickson PW, Aldred AR, Menting JGT, Marley PD, Sawyer WH, Schreiber G. Thyroxine transport in choroid plexus. *J Biol Chem* 1987; 262: 13907-13915.
80. Schreiber G, Southwell BR, Richardson SJ. Hormone delivery systems to the brain-transthyretin. *Exper Clin Endocrinol Diab* 1995; 103: 75-80.
81. Palha JA, Episkopou V, Maeda S, Shimada K, Gottesman ME. Thyroid hormone metabolism in a transthyretin-null mouse strain. *J Biol Chem* 1994; 269: 33135-33139.
82. Palha JA, Hays MT, Morreale de Escobar G, Episkopou V, Gottesman ME, Saraiva MJ. Transthyretin is not essential for thyroxine to reach the brain and other tissues in transthyretin-null mice. *Am J Physiol* 1997; 272: E485-E493.
83. St Germain DL, Galton VA. The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid* 1997; 7: 655-668.

84. Larsen PR, Davis TF, Hay ID. The thyroid gland. En: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, editores. Williams textbook of endocrinology. Filadelfia: W.B. Saunders, Co., 1998; 389-515.
85. Berry MJ, Banu L, Larsen PR. Type I iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. Nature 1991; 349: 438-440.
86. Salvatore D, Low SC, Berry M, Maia AL, Herney JW, Croteau W et al. Type 3 iodothyronine deiodinase: cloning, in vitro expression, and functional analysis of the placental selenoenzyme. J Clin Invest 1995; 96: 2421-2430.
87. Larsen PR, Silva JR, Kaplan MM. Relationships between circulating and intracellular thyroid hormones. Physiological and clinical implications. Endocr Rev 1981; 2: 87-102.
88. Van Doorn J, Roelfsema F, Van der Heide D. Contribution from local conversion of thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine to intracellular 3,5,3'-triiodothyronine in several organs in hypothyroid rats at isotope equilibrium. Acta Endocrinol (Copenh) 1982; 101: 386-396.
89. Crantz FR, Silva JE, Larsen PR. An analysis of the sources and quantity of 3,5,3'-triiodothyronine specifically bound to nuclear receptors in rat cerebral cortex and cerebellum. Endocrinology 1982; 110: 367-375.
90. Leonard JL, Kaplan MM, Visser TJ, Silva JE, Larsen PR. Cerebral cortex responds rapidly to thyroid hormones. Science 1981; 214: 571-573.
91. Obregón MJ, Ruiz de Oña C, Calvo R, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Outer ring iodothyronine deiodinases and thyroid hormone economy: responses to iodine deficiency in the rat fetus and neonate. Endocrinology 1991; 129: 2663-2673.
92. Ruiz de Oña C, Obregón MJ, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Developmental changes in rat brain 5'-deiodinase and thyroid hormones during the fetal period: the effects of fetal hypothyroidism and maternal thyroid hormones. Pediatr Res 1988; 24: 588-594.
93. Bates JM, St. Germain DL, Galton VA. Expression profiles of the three iodothyronine deiodinases D1, D2 and D3, in the developing rat. Endocrinology 1999; 140: 844-851.
94. 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.
95. Tu HM, Kim SW, Salvatore D, Bartha T, Legradi G, Larsen PR et al. Regional distribution of type 2 thyroxine deiodinase messenger ribonucleic acid in rat hypothalamus and pituitary and its regulation by thyroid hormone. Endocrinology 1997; 138: 3359-3368.
96. Riskind PN, Kolodny JM, Larsen PR. The regional distribution of type II 5'-monodeiodinase in euthyroid and hypothyroid rats. Brain Res 1987; 420: 194-198.
97. Guadaño-Ferraz A, Escámez MJ, Rausell E, Bernal J. Expression of type 2 iodothyronine deiodinase in hypothyroid rat brain indicates an important role of thyroid hormone in the development of specific primary sensory systems. J Neurosci 1999; 19: 3430-3439.
98. Campos-Barros A, Amma LL, Faris JS, Shailam R, Kelley MW, Forrest D. Type 2 iodothyronine deiodinase expression in the cochlea before the onset of hearing. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 1287-1292.
99. Leonard JL, Farwell AP, Yen PM, Chin WW, Stula M. Differential expression of thyroid hormone receptor isoforms in neurons and astroglial cells. Endocrinology 1994; 135: 548-555.
100. Tsacopoulos M, Magistretti PJ. Metabolic coupling between glia and neurons. J Neurosci 1996; 16: 877-885.
101. Bradley DJ, Towle HC, Young WSI. Alpha and beta thyroid hormone receptor (TR) gene expression during auditory neurogenesis: evidence for TR isoform-specific transcriptional regulation in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 439-443.
102. Lauterman J, Ten Cate W-JF. Postnatal expression of the rat alpha-thyroid hormone receptor in the rat cochlea. Hearing Res 1997; 107: 23-28.
103. Kaplan MM, Yaskoski KA. Maturation patterns of iodothyronine phenolic and tyrosyl ring deiodinase activities in rat cerebrum, cerebellum, and hypothalamus. J Clin Invest 1981; 67: 1208-1214.
104. Schröder-van der Elst JP, Van der Heide D, Morreale de Escobar G, Obregón MJ. Iodothyronine deiodinase activities in fetal rat tissues at several levels of iodine deficiency: a role for the skin in 3,5,3'-triiodothyronine economy? Endocrinology 1998; 139: 2229-2234.
105. Kaplan MM, Shaw EA. Type II iodothyronine 5'-deiodination by human and rat placenta in vitro. J Clin Endocrinol Metabol 1984; 59: 253-257.
106. Tu HM, Legradi G, Bartha T, Salvatore D, Lechan RM, Larsen PR. Regional expression of the type 3 iodothyronine deiodinase messenger ribonucleic acid in the rat central nervous system and its regulation by thyroid hormone. Endocrinology 1999; 140: 784-790.
107. Escámez MJ, Guadaño-Ferraz A, Cuadrado 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.
108. Becker KB, Stephens KC, Davey JC, Schneider MJ, Galton VA. The type 2 and type 3 iodothyronine deiodinases play important roles in coordinating development in Rana catesbeiana tadpoles. Endocrinology 1997; 138: 2989-2997.
109. Berry DL, Rose CS, Remo BF, Brown DD. The expression pattern of thyroid hormone response genes in remodeling tadpole tissues defines distinct growth and resorption gene expression programs. Dev Biol 1998; 203: 24-35.
110. Marsh-Armstrong N, Huang H, Remo BF, Liu TT, Brown DD. Asymmetric growth and development of the xenopus laevis retina during metamorphosis is controlled by type III deiodinase. Neuron 1999; 24: 871-878.
111. Huang H, Marsh-Armstrong N, Brown DD. Metamorphosis is inhibited in transgenic xenopus laevis tadpoles that overexpress type III deiodinase. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 96: 962-967.
112. Mortimer RH, Galligan JP, Cannell GR, Addison RS, Roberts MS. Maternal to fetal thyroxine transmission in the human term placenta is limited by inner ring deiodination. J Clin Endocrinol Metabol 1996; 81: 2247-2249.
113. Santini F, Chiovato L, Ghirri P, Lapi P, Mammoli C, Montanelli L et al. Serum iodothyronines in the human fetus and the newborn: evidence for an important role of placenta in fetal thyroid hormone homeostasis. J Clin Endocrinol Metabol 1999; 84: 493-498.
114. Galton VA, Martínez E, Hernández A, St. Germain EA, Bates JM, St. Germain DL. Pregnant rat uterus expresses high levels of the type 3 iodothyronine deiodinase. J Clin Invest 1999; 103: 979-987.
115. Baum MJ. Psychosexual development. En: Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR, editores. Fundamental neuroscience. San Diego: Academic Press, 1999; 1229-1244.
116. Bhat NR, Shanker G, Pieringer A. Investigations on myelination *in vitro*. Regulation of 2'-3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydrolase by thyroid hormone in cultures of dissociated brain cells from embryonic mice. J Neurochem 1981; 37: 695-701.
117. Rodríguez-Peña A, Ibarrola N, Iñiguez MA, Muñoz A, Bernal J. Neonatal hypothyroidism, affects the timely expression of myelin-associated glycoprotein in the rat brain. J Clin Invest 1993; 91: 812-818.
118. Ibarrola N, Rodríguez-Peña A. Hypothyroidism coordinately and transiently affects myelin protein gene expression in most rat brain regions during postnatal development. Brain Res 1997; 752: 285-293.
119. Strait KA, Zou L, Oppenheimer JH. b1 isoform-specific regulation of a triiodothyronine-induced gene during cerebellar development. Mol Endocrinol 1992; 6: 1874-1880.
120. Guadaño-Ferraz A, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G, Innocenti GM, Berbel P. The development of the anterior commissure in normal and hypothyroid rats. Dev Brain Res 1994; 81: 293-308.
121. Farsetti A, Desvergne B, Hallenbeck P, Robbins J, Nikodem V. Characterization of myelin basic protein thyroid hormone response element and its function in the context of native and heterologous promoter. J Biol Chem 1992; 267: 15784-15788.
122. Almazan G, Honegger P, Matthieu JM. Triiodothyronine stimulation of oligodendroglial differentiation and myelination. Dev Neurosci 1985; 7: 45-54.
123. Barres BA, Lazar MA, Raff MC. A novel role for thyroid hormone, glucocorticoids and retinoic acid in timing oligodendrocyte development. Development 1994; 120: 1097-1108.
124. Ben-Hur T, Rogister B, Murray K, Rougon G, Dubois-Dalq M. Growth and fate of PSA-NCAM + precursors of the postnatal brain. J Neurosci 1998; 18: 5777-5778.
125. Johe KK, Hazel TG, Muller T, Dugich-Djordjevic MM, McKay RD. Single factors direct the differentiation of stem cells from the fetal and adult central nervous system. Genes Dev 1996; 10: 3129-3140.
126. Rogister B, Ben-Hur T, Dubois-Dalq M. From neural stem cells to myelinating oligodendrocytes. Mol Cell Neurosci 1999; 14: 287-300.
127. Dembri A, Belkhiria M, Michel O, Michel R. Effects of short- and long-term thyroidectomy on mitochondrial and nuclear activity in adult rat brain. Mol Cell Endocrinol 1983; 33: 211-223.
128. Bangur CS, Howland JL, Katyare SS. Thyroid hormone treatment alters phospholipid composition and membrane fluidity of rat brain mitochondria. Biochem J 1995; 305: 29-32.
129. Vega-Núñez E, Alvarez AM, Menéndez-Hurtado A, Santos A, Pérez-Castillo A. Neuronal mitochondrial morphology and transmembrane potential are severely altered by hypothyroidism during rat brain development. Endocrinology 1997; 138: 3771-3778.
130. Vega-Núñez E, Menéndez-Hurtado A, Garesse R, Santos A, Pérez-Castillo A. Thyroid hormone-regulated brain mitochondrial genes revealed by differential cDNA cloning. J Clin Invest 1995; 96: 893-899.
131. Álvarez-Dolado M, González-Moreno M, Valencia A, Zenke M, Bernal J, Muñoz A. Identification of a mammalian homologue of the fungal Tom70 mitochondrial precursor protein import receptor as a thyroid hormone-regulated gene in specific brain regions. J Neurochem 1999; 73: 2240-2249.
132. Iglesias T, Caubín J, Zaballos A, Bernal J, Muñoz A. Identification of the mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 (ND3) as a thyroid hormone regulated gene by whole genome PCR analysis. Biochem Biophys Res Comm 1995; 210: 995-1000.
133. Casaccia-Bonnel P, Kong H, Chao MV. Neurotrophins: the biological paradox of survival factors eliciting apoptosis. Cell Death Differ 1998; 5: 357-364.
134. Bibel M, Hoppe E, Barde YA. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors trk and p75NTR. EMBO J 1999; 18: 616-622.
135. Patel AJ, Hayashi M, Hunt A. Role of thyroid hormone and nerve

- growth factor in the development of choline acetyltransferase and other cell-specific marker enzymes in the basal forebrain of the rat. *J Neurochem* 1988; 50: 803-811.
136. Clos J, Legrand C. An interaction between thyroid hormone and nerve growth factor promotes the development of hippocampus, olfactory bulbs and cerebellum: a comparative biochemical study of normal and hypothyroid rats. *Growth Factor* 1990; 3: 205-220.
 137. Walker P, Weil ML, Weichsel ME, Fisher DA. Effects of thyroxine on nerve growth factor concentration in neonatal mouse brain. *Life Sci* 1981; 28: 1777-1787.
 138. Giordano T, Pan JB, Casuto D, Watanabe S, Arneric SP. Thyroid hormone regulation of NGF, NT-3 and BDNF RNA in the adult rat brain. *Mol Brain Res* 1992; 16: 239-245.
 139. Figuereido BC, Almazán G, Ma Y, Tetzlaff W, Miller FD, Cuello AC. Gene expression in the developing cerebellum during perinatal hypothyroidism. *Mol Brain Res* 1993; 17: 258-268.
 140. Álvarez-Dolado M, Iglesias T, Rodríguez-Peña A, Bernal J, Muñoz A. Expression of neurotrophins and the trk family of neurotrophin receptors in normal and hypothyroid rat brain. *Mol Brain Res* 1994; 27: 249-257.
 141. Calzá L, Giardino L, Ceccatelli S, Hokfelt T. Neurotrophins and their receptors in the adult hypothyroid rat after kainic acid injection: an in situ hybridization study. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 1873-1881.
 142. Lindholm D, Castren E, Tsoulfas P, Kolbeck R, Penha Berzaghi M, Leingartner A et al. Neurotrophin-3 induced by tri-iodothyronine in cerebellar granular cells promotes purkinje cell differentiation. *J Cell Biol* 1993; 122: 443-450.
 143. Neveu I, Arenas E. Neurotrophins promote the survival and development of neurons in the cerebellum of hypothyroid rats. *J Cell Biol* 1996; 133: 631-646.
 144. Altman J, Bayer SA. Development of the cerebellar system. Boca Raton: CRC Press, 1997.
 145. Koibuchi N, Fukuda H, Chin WW. Promoter-specific regulation of the brain-derived neurotrophic factor gene by thyroid hormone in the developing rat cerebellum. *Endocrinology* 1999; 140: 3955-3961.
 146. Schwartz PM, Borghesani PR, Levy RL, Pomeroy SL, Segal RA. Abnormal cerebellar development and foliation in BDNF $-/-$ mice reveals a role of neurotrophins in CNS patterning. *Neuron* 1997; 19: 269-281.
 147. Francon J, Fellous A, Lennon AM, Núñez J. Is thyroxine a regulatory signal for neurotubule assembly during brain development? *Nature* 1977; 266: 188-191.
 148. Nunez J, Couchie D, Aniello F, Bridoux AM. Regulation by thyroid hormone of microtubule assembly and neuronal differentiation. *Neurochem Res* 1991; 16: 975-982.
 149. Muñoz A, Rodríguez-Peña A, Pérez-Castillo A, Ferreiro B, Sutcliffe JG, Bernal J. Effects of neonatal hypothyroidism on rat brain gene expression. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 273-280.
 150. Aniello F, Couchie D, Bridoux AM, Grippois D, Núñez J. Splicing of juvenile and adult tau mRNA variants is regulated by thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 4035-4039.
 151. Mavilia C, Couchie D, Núñez J. Diversity of high-molecular-weight tau proteins in different regions of the nervous system. *J Neurochem* 1994; 63: 2300-2306.
 152. Silva JE, Rudas P. Effects of congenital hypothyroidism on microtubule-associated protein-2 expression in the cerebellum of the rat. *Endocrinology* 1990; 126: 1276-1282.
 153. Aniello F, Couchie D, Grippois D, Núñez J. Regulation of five tubulin isotypes by thyroid hormone during brain development. *J Neurochem* 1991; 57: 1781-1786.
 154. Lewis SA, Lee MG, Cowan NJ. Five mouse tubulin isotypes and their regulated expression during development. *J Cell Biol* 1985; 101: 852-861.
 155. Villasante A, Wang D, Dobner P, Dolph P, Lewis SA, Cowan NJ. Six mouse alpha-tubulin mRNAs encode five distinct isotypes: testis-specific expression of two sister genes. *Mol Cell Biol* 1986; 6: 2409-2419.
 156. Wang D, Villasante A, Lewis SA, Cowan NJ. The mammalian beta-tubulin repertoire: hematopoietic expression of a novel, heterologous beta-tubulin isotype. *J Cell Biol* 1986; 103: 1903-1910.
 157. Cleveland DW. The multitubulin hypothesis revisited: what have we learned? *J Cell Biol* 1987; 104: 381-383.
 158. Miller FD, Naus CC, Durand M, Bloom FE, Milner RJ. Isotypes of alpha-tubulin are differentially regulated during neuronal maturation. *J Cell Biol* 1987; 105: 3065-3073.
 159. Gravel C, Hawkes R. Thyroid hormone modulates the expression of a neurofilament antigen in the cerebellar cortex: premature induction and overexpression by basket cells in hyperthyroidism and a critical period for the correction of hypothyroidism. *Brain Res* 1987; 422: 327-335.
 160. Pal U, Biswas SC, Sarkar PK. Regulation of actin and its mRNA by thyroid hormones in cultures of fetal human brain during second trimester of gestation. *J Neurochem* 1997; 69: 1170-1176.
 161. Biswas SC, Pal U, Sarkar PK. Regulation of cytoskeletal proteins by thyroid hormone during neuronal maturation and differentiation. *Brain Res* 1997; 757: 245-253.
 162. Leonard JL, Farwell AP. Thyroid hormone-regulated actin polymerization in brain. *Thyroid* 1997; 7: 147-151.
 163. Milbrandt J. A nerve growth factor-induced gene encodes a possible transcriptional regulatory factor. *Science* 1987; 238: 797-799.
 164. Mellström B, Pipaon C, Naranjo JR, Pérez-Castillo A, Santos A. Differential effect of thyroid hormone on NGFI-A gene expression in developing rat brain. *Endocrinology* 1994; 135: 583-588.
 165. Ghorbel MT, Seugnet I, Hadj-Sahraoui N, Topilko P, Levi G, Demeineix B. Thyroid hormone effects on Krox-24 transcription in the postnatal mouse brain are developmentally regulated but are not correlated with mitosis. *Oncogene* 1999; 18: 917-924.
 166. Imataka H, Sogawa K, Yasumoto K, Kikuchi Y, Sasano K, Kobayashi A et al. Two regulatory proteins that bind to the basic transcription element (BTE), a GC box sequence in the promoter region of the rat P-4501A1 gene. *EMBO J* 1992; 11: 3663-3671.
 167. Denver RJ, Ouellet L, Furling D, Kobayashi A, Fujii-Kuriyama Y, Puymirat J. Basic transcription element-binding protein (BTEB) is a thyroid hormone-regulated gene in the developing central nervous system. Evidence for a role in neurite outgrowth. *J Biol Chem* 1999; 274: 23128-23134.
 168. Carlberg C, Hooff van Huijsdijnen R, Staple JK, DeLamarer JF, Becker-Andre M. RZR α s, a new family of retinoid-related orphan receptors that function as both monomers and homodimers. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 757-770.
 169. Giguere V, McBroom LD, Flock G. Determinants of target gene specificity for ROR alpha 1: monomeric ADN binding by an orphan nuclear receptor. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2517-2526.
 170. Sashihara S, Felts PA, Waxman SG, Matsui T. Orphan nuclear receptor ROR alpha gene: isoform-specific spatiotemporal expression during postnatal development of brain. *Mol Brain Res* 1996; 42: 109-117.
 171. Hamilton BA, Frankel WN, Kerrebrock AW, Hawkins TL, FitzHugh W, Kusumi K et al. Disruption of the nuclear hormone receptor ROR α in staggerer mice [published erratum appears in *Nature* 1996; 381: 346]. *Nature* 1996; 379: 736-739.
 172. Koibuchi N, Chin WW. ROR α gene expression in the perinatal rat cerebellum: ontogeny and thyroid hormone regulation. *Endocrinology* 1998; 139: 2335-2341.
 173. Álvarez-Dolado M, González-Sancho JM, Bernal J, Muñoz A. Developmental expression of tenascin-C is altered by hypothyroidism in the rat brain. *Neurosci* 1998; 84: 309-322.
 174. Latasa MJ, Belandia A, Pascual A. Thyroid hormones regulates β -amyloid gene splicing and protein secretion in neuroblastoma cells. *Endocrinology* 1998; 139: 2692-2697.
 175. Gerrelli D, Huntriss JD, Latchman DS. Antagonistic effects of retinoic acid and thyroid hormone on the expression of the tissue splicing protein SmN in a clonal cell line derived from rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 713-719.
 176. Cuadrado A, Bernal J, Muñoz A. Identification of the mammalian homolog of the splicing regulator *suppressor-of-white-apricot* as a thyroid hormone regulated gene. *Mol Brain Res* 1999; 71: 332-340.
 177. Iglesias T, Caubin J, Stunnenberg HG, Zaballos A, Bernal J, Muñoz A. Thyroid hormone-dependent transcriptional repression of neural cell adhesion molecule during brain maturation. *EMBO J* 1996; 15: 4307-4316.
 178. Álvarez-Dolado M, Cuadrado A, Navarro-Yubero C, Sonderegger P, Furley AJ, Bernal J et al. Regulation of the L1 cell adhesion molecule by thyroid hormone in the developing brain. *Mol Cell Neurobiol* 2000; 16: 499-514.
 179. Watson JB, Battenberg EF, Wong KK, Bloom FE, Sutcliffe JG. Subtractive cDNA cloning of RC3, a rodent cortex-enriched mRNA encoding a novel 78 residue protein. *J Neurosci Res* 1990; 26: 397-408.
 180. Baudier J, Deloulme JC, Van Dorsselaer A, Black D, Matthes HW. Purification and characterization of a brain-specific protein kinase C substrate, neurogranin (p17). Identification of a consensus amino acid sequence between neurogranin and neuromodulin (GAP43) that corresponds to the protein kinase C phosphorylation site and the calmodulin-binding domain. *J Biol Chem* 1991; 266: 229-237.
 181. Gerendasy DD, Sutcliffe JG. RC3/neurogranin, a postsynaptic calpacitin for setting the response threshold to calcium influxes. *Mol Neurobiol* 1997; 15: 131-163.
 182. Iñiguez MA, De Lecea L, Guadaño-Ferraz A, Morte B, Gerendasy D, Sutcliffe JG et al. Cell-specific effects of thyroid hormone on RC3/neurogranin expression in rat brain. *Endocrinology* 1996; 137: 1032-1041.
 183. Martínez de Arrieta C, Pérez Jurado L, Bernal J, Coloma A. Structure, organization, and chromosomal mapping of the human neurogranin gene (NRGN). *Genomics* 1997; 41: 243-249.
 184. Iñiguez MA, Rodríguez-Peña A, Ibarrola N, Morreale de Escobar G, Bernal J. Adult rat brain is sensitive to thyroid hormone. Regulation of RC3/neurogranin mRNA. *J Clin Invest* 1992; 90: 554-558.
 185. Soderling TR. The Ca-calmodulin-dependent protein kinase cascade. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 232-236.
 186. Ohmsted CA, Jensen KF, Sahyoun NE. Ca $^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase enriched in cerebellar granule cells. Identification of a novel neuronal calmodulin-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 1989; 264: 5866-5875.
 187. Krebs J, Means RL, Honegger P. Induction of calmodulin kinase IV by the thyroid hormone during the development of rat brain. *J Biol Chem* 1996; 271: 11055-11058.

188. Kuno-Murata M, Koibuchi N, Fukuda H, Murata M, Chin WW. Augmentation of thyroid hormone receptor-mediated transcription by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase type IV. *Endocrinology* 2000; 141: 2275-2278.
189. Falk JD, Vargiu P, Foye PE, Usui H, Pérez J, Danielson PE et al. Rhes: a striatal-specific Ras homolog related to Dexas1. *J Neurosci Res* 1999; 57: 782-788.
190. Kempainen RJ, Behrend EN. Dexamethasone rapidly induces a novel ras superfamily member-related gene in AtT-20 cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 3129-3131.
191. Urade Y, Hayaishi O. Prostaglandin D synthase: structure and function. *Vit Horm* 2000; 58: 89-120.
192. White DM, Takeda T, DeGroot LJ, Stefansson K, Arnason BG. Beta-trace gene expression is regulated by a core promoter and a distal thyroid hormone response element. *J Biol Chem* 1997; 272: 14387-14393.
193. García-Fernández LF, Urade Y, Hayaishi O, Bernal J, Muñoz A. Identification of a thyroid hormone response element in the promoter region of the rat lipocalin-type prostaglandin D synthase (beta-trace) gene. *Mol Brain Res* 1998; 55: 321-330.
194. Nordquist DT, Kozak CA, Orr HT. cDNA cloning and characterization of three genes uniquely expressed in cerebellum by Purkinje cells. *J Neurosci* 1988; 8: 223-226.
195. Zou L, Hagen SC, Strait KA, Oppenheimer JH. Identification of thyroid hormone response elements in rodent Pcp-2, a developmentally regulated gene of cerebellar Purkinje cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 13346-13352.
196. Anderson GW, Hagen SG, Larson RJ, Strait KA, Schwartz HL, Mariash CN et al. Purkinje cell protein-2 cis-elements mediate repression of T3-dependent transcriptional activation. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 131: 79-87.
197. Anderson GW, Larson RJ, Oas DR, Sandhofer CR, Schwartz HL, Mariash CN et al. Chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor (COUP-TF) modulates expression of the Purkinje cell protein-2 gene. A potential role for COUP-TF in repressing premature thyroid hormone action in the developing brain. *J Biol Chem* 1998; 273: 16391-16399.
198. Thompson CC. Thyroid hormone-responsive genes in developing cerebellum include a novel synaptotagmin and a hairless homolog. *J Neurosci* 1996; 16: 7832-7840.
199. Faivre-Sarrailh C, Ferraz C, Liautard JP, Rabie A. Effect of thyroid deficiency on actin mRNA content in the developing rat cerebellum. *Int J Dev Neurosci* 1990; 8: 99-106.
200. Koibuchi N, Matsuzaki S, Ichimura K, Ohtake H, Yamaoka S. Ontogenic changes in the expression of cytochrome c oxidase subunit I gene in the cerebellar cortex of the perinatal hypothyroid rat. *Endocrinology* 1996; 137: 5096-5108.
201. Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA. Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum. *Endocrinology* 1999; 140: 4221-4227.
202. Forrest D, Vennström B. Functions of thyroid hormone receptors in mice. *Thyroid* 2000; 10: 41-52.
203. Sandhofer C, Schwartz HL, Mariash CN, Forrest D, Oppenheimer JH. Beta receptor isoforms are not essential for thyroid hormone-dependent acceleration of PCP-2 and myelin basic protein gene expression in the developing brains of neonatal mice. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 137: 109-115.
204. Forrest D, Hanebuth E, Smeyne RJ, Everds N, Stewart CL, Wehner JM et al. Recessive resistance to thyroid hormone in mice lacking thyroid hormone receptor beta: evidence for tissue-specific modulation of receptor function. *EMBO J* 1996; 15: 3006-3015.
205. Forrest D, Golarai G, Connor J, Curran T. Genetic analysis of thyroid hormone receptors in development and disease. *Rec Prog Horm Res* 1996; 51: 1-22.
206. Fraichard A, Chassande O, Plateroti M, Roux JP, Trouillas J, Dehay C et al. The T3R alpha gene encoding a thyroid hormone receptor is essential for post-natal development and thyroid hormone production. *EMBO J* 1997; 16: 4412-4420.
207. Gothe S, Wang Z, Ng L, Kindblom JM, Barros AC, Ohlsson C et al. Mice devoid of all known thyroid hormone receptors are viable but exhibit disorders of the pituitary-thyroid axis, growth, and bone maturation. *Genes Dev* 1999; 13: 1329-1341.
208. Dellovade TL, Zhu YS, Krey L, Pfaff DW. Thyroid hormone and estrogen interact to regulate behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 12581-12586.
209. Maberly GF. Iodine deficiency disorders: contemporary scientific issues. *J Nutr* 1994; 124: 1473S-1478S.
210. Merke F. The history and iconography of endemic goiter and cretinism. Lancaster: MTP Press, 1984.
211. McCarrison R. Endemic cretinism. The thyroid gland in health and disease. Londres: Baillière, Tindall and Cox, 1917; 124-147.
212. DeLong GR, Stanbury JB, Fierro-Benítez R. Neurological signs in congenital iodine-deficiency disorder (endemic cretinism). *Dev Med Child Neurol* 1985; 27: 317-324.
213. Thilly CH, Bourdoux PP, Due DT, DeLong GR, Vanderpas JB, Ermans AM. Myxedematous cretinism: an indicator of the most severe goiter endemias. En: Medeiros-Neto E, Gaitan E, editores. *Frontiers in thyroidology*. Nueva York: Plenum Press, 1986; 1081-1084.
214. Contempre B, Dumont JE, Deneff JF, Many MC. Effects of selenium deficiency on thyroid necrosis, fibrosis and proliferation: a possible role in myxoedematous cretinism. *Eur J Endocrinol* 1995; 133: 99-109.
215. Contempre B, Le Moine O, Dumont JE, Deneff JF, Many MC. Selenium deficiency and thyroid fibrosis. A key role for macrophages and transforming growth factor beta (TGF-beta). *Mol Cell Endocrinol* 1996; 124: 7-15.
216. Pharoah PO, Connolly KJ. Effects of maternal iodine supplementation during pregnancy. *Arch Dis Child* 1991; 66: 145-147.
217. Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. *Hormone Res* 1997; 48: 51-61.
218. Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. *Horm Res* 1997; 48: 51-61.
219. Tell G, Pellizzari L, Esposito G, Pucillo C, Macchia PE, Di Lauro R et al. Structural defects of a Pax8 mutant that give rise to congenital hypothyroidism. *Biochem J* 1999; 341: 89-93.
220. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro MT, Missero C, Chiovato L et al. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet* 1998; 19: 83-86.
221. Tiosano D, Pannain S, Vassart G, Parma J, Gershoni-Baruch R, Mandel H et al. The hypothyroidism in an inbred kindred with congenital thyroid hormone and glucocorticoid deficiency is due to a mutation producing a truncated thyrotropin receptor. *Thyroid* 1999; 9: 887-894.
222. LaFranchi S. Congenital hypothyroidism: etiologies, diagnosis, and management. *Thyroid* 1999; 9: 735-740.
223. Dubois J-M, Glorieux J, Richer F, Deal CL, Dussault JH, Van Vliet G. Outcome of severe congenital hypothyroidism: closing the developmental gap with early high dose levothyroxine treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 222-227.
224. De Zegher F, Pernaletti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den Berghe G, Martial JA. The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3127-3130.
225. Blizzard RM, Chandler RW, Landing Pettit MD, West CD. Maternal autoimmunization to thyroid as probable cause of athyreotic cretinism. *N Engl J Med* 1960; 263: 327-336.
226. Yasuda T, Ohnishi H, Wataki K, Minagawa M, Minamitani K, Niimi H. Outcome of a baby born from a mother with acquired juvenile hypothyroidism having undetectable thyroid hormone concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2630-2632.
227. Utiger RD. Maternal hypothyroidism ad fetal development. *N Engl J Med* 1999; 341: 601-602.
228. Glinooir D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev* 1997; 18: 401-433.
229. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 1999; 341: 549-555.
230. Pop VJ, Kuijpers JL, Van Baar AL, Verkerk G, Van Son MM, De Vijlder JJ et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol* 1999; 50: 149-155.
231. Fisher DA. Thyroid function in premature infants. The hypothyroxinemia of prematurity. *Clin Perinatol* 1998; 25: 999-1014.
232. Van den Hove MF, Beckers C, Devlieger H, De Zegher F, De Nayer P. Hormone synthesis and storage in the thyroid of human preterm and term newborns: effect of thyroxine treatments. *Biochimie* 1999; 81: 563-570.
233. Fisher DA. Hypothyroxinemia in premature infants: is thyroxine treatment necessary? *Thyroid* 1999; 9: 715-720.
234. Ares S, Escobar-Morreale H, Quero J, Durán S, Presas MJ, Herruzo R et al. Neonatal hypothyroxinemia: effects of iodine intake and premature birth. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1704-1712.
235. Morreale de Escobar G, Ares S. The hypothyroxinemia of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 713-715.
236. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, Felton CV, Butler J, McGregor AM. Maturation of the secretion of thyroid hormone and thyroid stimulating hormone in the fetus. *N Engl J Med* 1991; 324: 532-536.
237. Den Ouden AL, Kok JH, Verkerk PH, Brand R, Verloove-Vanhorick SP. The relation between neonatal thyroxine levels ad neurodevelopmental outcome at age 5 and 9 years in a national cohort of very preterm and/or very low birth weight infants. *Pediatr Res* 1996; 39: 142-145.
238. Reuss ML, Paneth N, Pinto-Martin JA, Lorenz JM, Susser M. The relation of transient hypothyroxinemia in preterm infants to neurologic development at two years of age. *N Engl J Med* 1996; 334: 821-827.
239. Levinton A, Paneth N, Reuss ML, Susser M, Allred EN, Dammann O et al. Hypothyroxinemia of prematurity and the risk of cerebral white matter damage. *J Pediatr* 1999; 134: 706-711.
240. Van Wassenaer AG, Kok JH, De Vijlder JJ, Briet JM, Smit BJ, Tamminga P et al. Effects of thyroxine supplementation on neurologic development in infants born at less than 30 weeks' gestation. *N Engl J Med* 1997; 336: 21-26.
241. Van Wassenaer AG, Kok JH, Dekker FW, Endert E, De Vijlder JJ. Thyroxine administration to infants of less than 30 weeks gestational age decreases plasma tri-iodothyronine concentrations. *Eur J Endocrinol* 1998; 139: 508-515.