

ASOCIACION ARGENTINA DE BIOLOGIA Y MEDICINA NUCLEAR

TERCER COLOQUIO ARGENTINO
de
HORMONAS TIROIDEAS

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

Editores: Noé Altschuler
Osvaldo J. Degrossi
Mario A. Pisarev

BUENOS AIRES

DEFECTOS HEREDITARIOS DE LA ORGANIFICACION TIROIDEA DEL YODO

H. NIEPOMNISZCZE

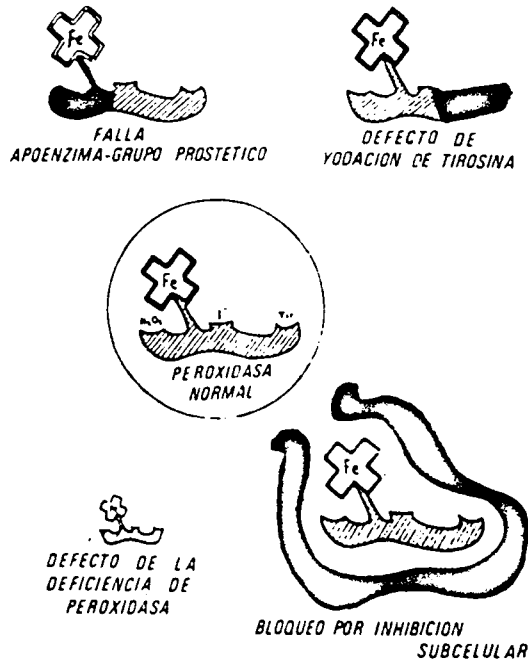
Estos errores congénitos del metabolismo del yodo se caracterizan clínicamente por descargar radioyodo tiroideo luego de la administración de tiocianato o perclorato. Esta descarga, inexistente normalmente, produce en estos pacientes la presencia de un depósito glandular de yoduro inorgánico que puede ser fácil y rápidamente desplazado al exterior (1).

Teóricamente, diversos mecanismos pueden ser responsables de una falla en la organificación del yodo, que bioquímicamente consiste en una alteración en la incorporación del halógeno a los residuos tirosilos de la tiroglobulina (2). Dado que el proceso de yodación de los residuos de tirosina involucra varios elementos, tales como la peroxidasa tiroidea, el H_2O_2 , la tiroglobulina y el yoduro, además del requisito de que todos ellos confluyan en el sitio anatómico de yodación, sería de esperar que existiesen defectos congénitos a nivel de cada uno de los mencionados elementos. Durante el último quinquenio fueron identificándose paulatinamente aquellos diferentes defectos que fuesen postulados por nosotros varios años atrás (3). De esta manera, luego de estudiarse exhaustivamente una veintena de glándulas tiroideas con este tipo de patología, se logró encontrar que la peroxidasa tiroidea estaba alterada en la mitad de los casos (3-9), mientras que la otra mitad se encontraba compuesta por defectos en la tiroglobulina (10-12), en la generación de H_2O_2 (13,14), y por aquellos pacientes portadores del Síndrome de Pendred (15), que asocia sordera nerviosa congénita con bocio y fallas tiroideas parciales en la organificación del yodo.

Dentro del grupo de defectos caracterizados por anomalías en la peroxidasa tiroidea pudieron identificarse, hasta el presente, cuatro variedades (figura 1). Dos de estas fallas fueron de tipo cualitativo, es decir, alteraciones en la estructura molecular de la enzima. De esta manera fueron encontrados dos casos afectados por la llamada "falla apoenzima-grupo prostético" (3,6) y otros dos casos por el "defecto de yodación de tirosina" (8,16). En otros cinco pacientes se observó una alteración cuantitativa de la peroxidasa tiroidea que nosotros denominamos "defecto de la deficiencia de peroxidasa" (4,7,8,9). Por último, Pommier y col. (7) describieron una peroxidasa que recién se activaba luego de separarse de las membranas subcelulares que normalmente contienen "in situ" a la enzima dentro de la célula tiroidea. A esta falla la denominamos "bloqueo por inhibición subcelular".

DEFECTOS DE LA PEROXIDASA TIROIDEA:

- 1) Falla Apoenzima-Grupo Prostético: Se la observó en preparaciones tiroideas, obtenidas por fraccionamiento subcelular de bocios congénitos con fallas en la organificación del yodo, donde no pudo detectarse actividad peroxidásica alguna, cualquiera haya sido el método utilizado para valorar la enzima. Dado que la peroxidasa tiroidea es una hemoproteína, cuyo grupo prostético hemo sería similar al de la hemoglobina, se decidió realizar en estos casos una incubación "in vitro" de las preparaciones tiroideas con hematina, previamente al



LEYENDA DE LA FIGURA 1

Defectos congénitos de la peroxidasa tiroidea. Dentro del círculo se observa un diagrama esquemático de la enzima normal mostrando sus sitios activos para unirse al H_2O_2 , el yoduro (I^-) y la tirosina (Tir). El grupo prostético hemo está representado por una cruz que simboliza los cuatro núcleos pirrólicos de la protoporfirina IX y un átomo de hierro en su interior. En la falla apoenzima-grupo prostético, la zona negra indica el lugar de la apoenzima donde asienta el defecto estructural. Obsérvese que éste altera no sólo la unión con el grupo prostético sino también el sitio de unión al H_2O_2 . También en color negro se representa la zona de la apoenzima que es afectada por el defecto de yodación de tirosina. Esta anomalía en la estructura de la peroxidasa anularía el sitio de unión a la tirosina y modificaría el del yoduro, deprimiendo en consecuencia la afinidad de la enzima por el halógeno. El defecto cuantitativo de la deficiencia de peroxidasa está esquematizado por una enzima normal pero disminuida en cantidad. El bloqueo por inhibición subcelular muestra una estructura membranosa que envuelve a la peroxidasa y le impide acceder fácilmente a los substratos.

ensayo de la actividad peroxidásica. De esta manera se logró reconstruir una enzima activa capaz de yodar eficientemente la tirosina pero incapaz de oxidar yoduro a yodo elemental. Posteriormente, se observó que la imposibilidad de formar yodo elemental se debía a que en el método usado la concentración de agua oxigenada era relativamente alta, lo que si bien no afectaba a peroxidasas tiroideas normales, inactivaba en cambio a la enzima reconstruida. Bajando las concentraciones de agua oxigenada en el medio de incubación se logró, entonces, oxidar yoduro a yodo elemental. Dado que los dos pacientes estudiados eran capaces de organificar algo de yodo, prueba de que sus bloqueos no eran completos, pero, siendo que al investigar la enzima en el laboratorio la actividad espontánea era insignificante, se concluyó que "in vivo" una pequeña parte de apoenzima se encontraría unida, aunque tal vez muy lábilmente, al grupo prostético hematina, y que cuando la enzima era investigada "in vitro", la falta completa de actividad resultaba de la pérdida del grupo prostético durante el manipuleo de laboratorio. Luego de la preincubación con hematina se lograba reconstruir una peroxidasa activa, pero cualitativamente alterada ya que era más sensible a la elevación de la temperatura y a las altas concentraciones de agua oxigenada.

- 2) Defecto de Yodación de Tirosina: Este defecto cualitativo de la peroxidasa tiroidea radicaría en la parte de la molécula enzimática donde asentaría el sitio de unión a la tirosina (figura 1). Nosotros encontramos esta falla en un cretino hipotiroideo con bocio congénito y bloqueo casi total de la organificación del yodo (16). El defecto enzimático encontrado fue una imposibilidad de formar yodotirosinas "in vitro", mediante el clásico método de yodación de tirosina catalizada por peroxidasa; sin embargo, la enzima retuvo inalterada su capacidad para oxidar al guayacol, que es sustrato dador de hidrógeno, universal de todas las peroxidasas. A pesar de que la enzima fue capaz de formar yodo elemental "in vitro" a través de la oxidación de yoduro, dicha actividad estuvo por debajo de la normal. Dado que el papel fisiológico de la peroxidasa tiroidea es yodar los grupos tirosilos de la tiroglobulina, su anormalidad bioquímica en este tipo de bocios congénitos sería la causa del bloqueo de la organificación del yodo observada en estos pacientes.
- 3) Defecto de la Deficiencia de Peroxidasa: Esta falla enzimática fue observada tanto en hombres como en mujeres con predominancia en estas últimas. En dos de los casos la ausencia de peroxidasa tiroidea fue total (8,9) y en un tercero casi total (4). Estos tres enfermos eran severamente hipotiroideos y presentaban un bloqueo de la organificación del yodo, evidenciado por la prueba del perclorato, donde la descarga de yoduro tiroideo fue prácticamente completa. Una cuarta paciente tenía un hipotiroidismo congénito moderado asociado a un déficit parcial de la enzima, la que pudo demostrarse como cualitativamente normal. El quinto caso tuvo un 20% de actividad enzimática en comparación a una glándula sana. Sin embargo, dicha actividad fue suficiente para mantener eutiroides a la paciente, aunque para ello fue necesario que su hipófisis, a través de la hipersecreción de TSH, mantuviese a la tiroides produciendo niveles hormonales que alcanzaron el límite inferior de la normalidad. En esta última enferma pudo también observarse que tenía en circulación una yodoproteína insoluble en butanol, que electroforéticamente era indiferenciable de la sueroalbúmina (5). De esta manera se demostró que un defecto de peroxidasa, documentado bioquímicamente, podía coexistir con la presencia

de yodoproteínas suéricas anormales. Como puede observarse, este "defecto de la deficiencia de peroxidasa", dependiendo de las concentraciones tisulares de la enzima en la tiroides, puede variar desde un severo cretinismo hasta un eutiroidismo compensado por el agrandamiento glandular debido a la estimulación tirotrófica crónica.

- 4) Bloqueo por Inhibición Subcelular: No se debería a una anomalía en la peroxidasa tiroidea sino a un bloqueo de la misma producido por una deficiencia en la estructura membranosa que contiene a la enzima "in situ" (7). Cabe recordar que la peroxidasa tiroidea se encuentra normalmente adherida a partículas subcelulares (cisternas del retículo endoplásmico rugoso, vesículas apicales y membrana apical), de las que puede ser solubilizada mediante tratamientos con detergentes biológicos o suavemente con tripsina.

DEFECTOS DE LA TIROGLOBULINA

Existen numerosas fallas congénitas en la síntesis y estructura de la tiroglobulina. A pesar de que gran parte de ellas no traen aparejado un defecto en la organificación del yodo, existen sin embargo, algunos pocos casos donde sí es posible encontrar fallas de organificación producidas por alteraciones en la tiroglobulina. La escasa frecuencia de bloqueos de la organificación del yodo en pacientes afectados por errores congénitos de la tiroglobulina podría ser debida a que siempre habría en la tiroides alguna proteína capaz de ser yodada, ya sea ésta albúmina u otras proteínas anormales (péptidos anómalos de tiroglobulina). Sin embargo, en aquellos casos en que la eficiencia de la yodación fuese deficiente, existiría la posibilidad de encontrar una falla parcial en la organificación, demostrable clínicamente por las pruebas del perclorato o tiocianato. Algunos ejemplos publicados refieren casos donde el defecto en la tiroglobulina sería de tipo estructural. En uno de ellos la falla consistiría en una tiroglobulina con una estructura molecular interna anormalmente compacta, la cual traería aparejada una reducción significativa de los residuos tirosilos disponibles para la yodación. En otro caso el defecto radicó en que la tiroglobulina de la paciente estudiada no tendría la forma globular específica con uniones covalentes dentro de la molécula, produciendo en consecuencia una deficiencia marcada en la formación de diyodotirosina a partir de la monoydotirosina, (10,11). En la familia estudiada por nosotros (12), tres hermanas con bocio congénito, el defecto observado fue la ausencia de tiroglobulina en el tejido tiroideo. Dos de ellas eran hipotiroides, tenían un bloqueo parcial en la organificación del yodo, demostrado mediante la prueba del perclorato, y la menor, que era la única eutiroides, no tenía defecto en la organificación dado la negatividad de la prueba. Sin embargo, fue esta paciente la que tuvo niveles tisulares elevadísimos (4 a 5 veces los normales) de peroxidasa tiroidea y de otra enzima, la NADPH citocromo c reductasa, tal vez involucrada en la generación intracelular de peróxido. Deducimos que el aumento de estas enzimas logró compensar el defecto de organificación resultante de la falta de tiroglobulina. Cabe destacar que las tres hermanas sintetizaban en sus tiroides una yodoproteína anómala capaz de elaborar cierta cantidad de tiroxina, y producían además, exceso de yodoalbúmina. En las tres hermanas se encontraron también yodoproteínas suéricas anormales.

POSIBLES DEFECTOS EN LA FUENTE TIROIDEA DE H_2O_2

El mecanismo de formación intratiroidea de peróxido no está aún

debidamente aclarado. No obstante, existen evidencias que enzimas tales como la NADPH-citocromo c reductasa y la NADH-citocromo b₅ reductasa podrían estar directamente vinculadas a la producción del H₂O₂. En la tiroides se han hallado, además, otros sistemas enzimáticos con capacidad potencial para producir agua oxigenada; ellos son la monoaminooxidasa y la xantina oxidasa. También se encontró una superóxido dismutasa capaz de transformar activamente el radical superóxido (O₂) en H₂O₂. El O₂ podría formarse por la acción de la xantinoxidasa o la NADPH-citocromo c reductasa sobre el oxígeno molecular (O₂), (2). Recientemente se ha comunicado un caso de bocio congénito con defecto de organificación donde el homogenado tiroideo era incapaz de formar yodo orgánico "in vitro", pero sí lo hacía si era suplementado por la adición de citocromo b₅ reducido o de un sistema generador de H₂O₂. La actividad de la NADH-citocromo b₅ reductasa microsomal fue baja, pudiéndose aumentar la actividad a niveles normales preincubando la enzima con FAD. La administración oral al paciente de FAD logró curar su defecto de organificación, restaurar niveles hormonales normales y disminuir el tamaño del bocio (14).

Nosotros tuvimos la oportunidad de estudiar una paciente que fue tiroidectomizada por un bocio familiar eutiroides con defecto parcial en la organificación del yodo (13). El análisis de la glándula extirpada reveló que tanto la tiroglobulina como la peroxidasa tiroidea eran normales. Por el contrario, la actividad de la NADPH-citocromo c reductasa estaba disminuida en un 50%. Si bien la naturaleza bioquímica del defecto no pudo confirmarse a ciencia cierta, se pensó que probablemente la causa del error congénito radicaría en una deficiencia endógena en la fuente intratiroidea de agua oxigenada.

SÍNDROME DE PENDRED

Los pacientes con Síndrome de Pendred son generalmente eutiroides o moderadamente hipotiroideos, con bocios de tamaño variable, fallas parciales en la organificación del yodo, y con una sordera de tipo perceptiva que puede ser parcial o total. Se cree que la lesión auditiva podría asentar en las células ciliadas del órgano de Corti (15).

En los últimos años pudieron realizarse estudios bioquímicos sobre fragmentos de tiroides procedentes de bocios de estos pacientes. En estos estudios se observó que la tiroglobulina era normal, que la peroxidasa tiroidea era normalmente activa en todos los ensayos realizados, y que tanto la NADPH-citocromo c reductasa como la superóxido dismutasa también eran normales (17-20).

No es posible descartar que el defecto sea debido a una deficiente generación intracelular de peróxido, pero el hecho de que las enzimas que se creen involucradas en la síntesis de H₂O₂ sean normales, sería un argumento en contra de esta posibilidad. Cabe destacar que la medición directa de los niveles de agua oxigenada en la tiroides humana nunca pudieron ser medidos por carecerse de una metodología adecuada.

Dado que el defecto de este síndrome radica en un bloqueo parcial de la organificación del yodo, y que todos los componentes del sistema de hallarían presentes en el tejido enfermo, pensamos que la causa desencadenante de la falla en la biosíntesis hormonal del Síndrome de Pendred radicaría en un defecto de tipo citoestructural, que dificulte la confluencia de los elementos de la yodación al sitio celular específico don-

ésta tendría lugar, muy probablemente a nivel de la membrana apical. Más concretamente, creemos que la anomalía podría ser debida a una deficiente migración de las vesículas apicales que transportan peroxidasa desde las cisternas del retículo endoplásmico rugoso hacia la membrana apical.

REFERENCIAS

- 1 NIEPOMNISZCZE, H.: Medicina (Buenos Aires) 36:51, 1976.
- 2 DEGROOT, L.J. y NIEPOMNISZCZE, H.: Metabolism, en prensa.
- 3 NIEPOMNISZCZE, H., DEGROOT, L.J. y HAGEN, G.A.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 34:607, 1972.
- 4 NIEPOMNISZCZE, H., CASTELLS, S., DEGROOT, L.J., REFETOFF, S., KIM, O.S., RAPOPORT, B. y HATT, R.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 36:347, 1973.
- 5 NIEPOMNISZCZE, H., DEGROSSI, O.J., SCAVINI, L.M. y CURUTCHET, H.P.: In "Thyroid Research" (Proceedings of the Seventh International Thyroid Conference). Edited by Robbins J. & Braverman L.E. Excerpta Medica, Amsterdam, p. 470, 1976.
- 6 NIEPOMNISZCZE, H., ROSENBLOOM, A.L., DEGROOT, L.J., SHIMAOKA, K., REFETOFF, S., y YAMAMOTO, K.: Metabolism, 24:57, 1975.
- 7 POMMIER, J., TOURNIAIRE, J., DEME, D., CHALENDAR, D., BORNET, H. y NUNEZ, J.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 39:69, 1974.
- 8 POMMIER, J., TOURNIAIRE, J., RAHMOUN, B., DEME, D., PALLO, D., BORNET, H. y NUNEZ, J.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 42:319, 1976.
- 9 VALENTA, L., BODE, H., VICKERY, A.L., CAUFIELD, J.H. y MALOOF, F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 36:830, 1973.
- 10 KUSAKABE, T.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 35:785, 1972.
- 11 KUSAKABE, T.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 37:317, 1973.
- 12 NIEPOMNISZCZE, H., MEDEIROS-NETO, G.A., REFETOFF, S., DEGROOT, L.J., y FANG, V.S.: Clin. Endocrinol., en prensa.
- 13 NIEPOMNISZCZE, H., DEGROSSI, O.J., MEDEIROS-NETO, G.A., SCAVINI, L.M. y DEGROOT, L.J.: Medicina (Buenos Aires), 33:586, 1973.
- 14 KUSAKABE, T.: Metabolism, 24:1103, 1975.
- 15 FRASER, G.R.: Ann. Hum. Genet., 28:201, 1965.
- 16 NIEPOMNISZCZE, H., COLEONI, A., TARGOVNIK, H., IORCANSKY, S. y DEGROSSI, O.J.: V International Congress of Endocrinology, Hamburg, Fed. Rep. Germany, July 18-24, p. 81, 1976.

- 17 LJUNGGREN, L.G., LINDSTROM, H. y HJERN, B.: Acta Endocrinol. (Kbh), 72:272, 1973.
- 18 BURROW, G.N., SPAULDING, S.W., ALEXANDER, N.M. y BOWER, B.F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 36:522, 1973.
- 19 NIEPOMNISZCZE, H., COLEONI, A.H., DEGROSSI, O.J., SCAVINI, L.M., CURUTCHET, H.P. y OLIVIERI, P.: 4° Congreso Argentino de Endocrinología y Metabolismo. Paraná - Entre Ríos, 1975.
- 20 CAVE, W.T. Jr. y DUNN, J.T.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 41:590, 1975.