

LA TIROIDES COMO MODELO DE MECANISMOS MOLECULARES EN ENFERMEDADES GENETICAS

CARINA M. RIVOLTA, CHRISTIAN M. MOYA, SEBASTIAN A. ESPERANTE, VIVIANA J GUTNISKY,
VIVIANA VARELA, HECTOR M. TARGOVNIK

Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

Resumen Las enfermedades tiroideas constituyen una heterogénea colección de anomalías asociadas a mutaciones en los genes responsables en el desarrollo de la tiroides: factor de transcripción tiroideo 1 (TTF-1), factor de transcripción tiroideo 2 (TTF-2) y PAX8, o en uno de los genes que codifican para las proteínas involucradas en la biosíntesis de hormonas tiroideas como tiroglobulina (TG), tiroperoxidasa (TPO), sistema de generación de peróxido de hidrógeno (DUOX2), cotransportador de Na/I⁻ (NIS), pendrina (PDS), TSH y receptor de TSH. El hipotiroidismo congénito ocurre con una prevalencia de 1 en 4000 nacidos. Los pacientes con este síndrome pueden ser divididos en dos grupos: con hipotiroidismo congénito sin bocio (disembriogénesis) o con bocio (dishormonogénesis). El grupo de disembriogénesis, que corresponde al 85% de los casos, resulta de ectopía, agenesia o hipoplasia. En una minoría de estos pacientes, el hipotiroidismo congénito está asociado con mutaciones en los genes TTF-1, TTF-2, PAX-8, TSH o TSHr. La presencia de bocio congénito (15% de los casos) se ha asociado a mutaciones en los genes NIS, TG, TPO, DUOX2 o PDS. El hipotiroidismo congénito por dishormonogénesis es transmitido en forma autonómica recesiva. Mutaciones somáticas en el TSHr han sido identificadas en adenomas tiroideos hiperfuncionantes. Otra enfermedad tiroidea bien establecida es la resistencia a hormonas tiroideas (RTH). Es un síndrome de reducida respuesta tisular a la acción hormonal causado por mutaciones localizadas en el gen del receptor β de hormonas tiroideas (TR β). Mutantes de TR β interfieren con la función del receptor normal por un mecanismo de dominancia negativa. En conclusión, la identificación de mutaciones en los genes de expresión tiroidea ha permitido un mayor entendimiento sobre la relación estructura-función de los mismos. La tiroides constituye un excelente modelo para el estudio molecular de las enfermedades genéticas.

Palabras claves: tiroides, enfermedades tiroideas, hipotiroidismo, gen, mutación

Abstract *The thyroid as a model for molecular mechanisms in genetic diseases.* Thyroid diseases constitute a heterogeneous collection of abnormalities associated with mutations in genes responsible for the development of thyroid: thyroid transcription factor-1 (TTF-1), thyroid transcription factor-2 (TTF-2) and PAX8, or in one of the genes coding for the proteins involved in thyroid hormone biosynthesis such as thyroglobulin (TG), thyroperoxidase (TPO), hydrogen peroxide-generating system (DUOX2), sodium/iodide symporter (NIS), pendrin (PDS), TSH and TSH receptor (TSHr). Congenital hypothyroidism occurs with a prevalence of 1 in 4000 newborns. Patients with this syndrome can be divided into two groups: nongoitrous (dysembryogenesis) or goitrous (dyshormonogenesis) congenital hypothyroidism. The dysembryogenesis group, which accounts for 85% of the cases, results from ectopy, agenesis and hypoplasia. In a minority of these patients, the congenital hypothyroidism is associated with mutations in TTF-1, TTF-2, PAX-8, TSH or TSHr genes. The presence of congenital goiter (15% of the cases) has been linked to mutations in the NIS, TG, TPO, DUOX2 or PDS genes. The congenital hypothyroidism with dyshormonogenesis is transmitted as an autosomal recessive trait. Somatic mutations of the TSHr have been identified in hyperfunctioning thyroid adenomas. Another established thyroid disease is the resistance to thyroid hormone (RTH). It is a syndrome of reduced tissue responsiveness to hormonal action caused by mutations located in the thyroid hormone receptor β (TR β) gene. Mutant TR β s interfere with the function of the wild-type receptor by a dominant negative mechanism. In conclusion, the identification of mutations in the thyroid expression genes has provided important insights into structure-function relationships. The thyroid constitutes an excellent model for the molecular study of genetic diseases.

Key-words: thyroid, thyroid diseases, hypothyroidism, gene, mutation

El impacto de la genética molecular en las últimas 2 décadas sobre la fisiopatología tiroidea modificó todos

los parámetros conocidos. El esquema general de la biosíntesis de hormonas tiroideas ha sido dilucidado hace varias décadas, como así también los fenómenos básicos responsables de la mayoría de las enfermedades tiroideas, pero la posibilidad de contar con la información de los genes que codifican a las proteínas tiroideas específicas permitieron agregar los precisos mecanismos y los mínimos detalles sobre el funcionamiento y el creci-

Recibido: 21-IX-2004

Aceptado: 18-IV-2005

Dirección postal: Dr. Héctor M. Targovnik, Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 1113 Buenos Aires, Argentina.
e-mail: htargovn@ffyb.uba.ar

miento del tirocito en condiciones normales como así también en patología.

Hace más de cien años que el bocio congénito fue descrito por Osler y Pendred^{1,2}. Luego, con los estudios llevados a cabo por Stanbury y colaboradores en 1950^{3,4} relacionados con hermanos que portaban defectos de organificación del yodo, nuestro conocimiento sobre los errores congénitos en el metabolismo tiroideo se ha incrementado. El clonado y la caracterización de los genes que codifican para hormonas y sus receptores, inició una nueva era en la endocrinología ampliando las perspectivas sobre la etiología y la patogenia de las enfermedades endocrinas. La aplicación de la biología molecular modificó los conceptos fisiopatológicos y diagnósticos de las enfermedades tiroideas. Estos avances permitieron descifrar los mecanismos moleculares responsables de ciertas formas de hipertiroidismo no autoinmune, que permiten explicar la patogenia de formas localizadas o generalizadas de la hiperfunción de las células tiroideas. En la última década se identificaron mutaciones en los genes involucrados en la ontogenia de la tiroides y en la mayoría de los pasos de la síntesis de sus hormonas: almacenamiento, secreción, distribución o utilización, originando diferentes cuadros clínicos que van desde el hipotiroidismo hasta el hipertiroidismo pasando por el eutiroidismo. Otro ejemplo del adelanto en el conocimiento de la fisiopatología de las enfermedades tiroideas lo constituyen los estudios sobre la resistencia a hormonas tiroideas, una enfermedad caracterizada por altas concentraciones de T_3 y T_4 circulantes en presencia de niveles cuantificables de tirotrófina (TSH) y que es debida a mutaciones en el gen que codifica para las isoformas β del receptor de hormonas tiroideas. Los avances de la genética molecular nos ayudarán a comprender los mecanismos de producción de las enfermedades tiroideas. De esta manera podrá elaborarse un diagnóstico racional que permita una terapéutica adecuada y precisa en ciertos casos o un asesoramiento genético a familias con riesgo de patología hereditaria en otros.

El objetivo de este trabajo es dar un panorama sobre los mecanismos moleculares que están implicados en el desarrollo de las principales enfermedades tiroideas, donde el componente genético juega un rol principal. En ese contexto la tiroides emerge como un modelo singular para el entendimiento de las enfermedades genéticas en general.

Aspectos generales de la biosíntesis de hormonas tiroideas y de los genes que codifican a las proteínas específicas tiroideas

La biosíntesis de hormonas tiroideas (T_3 y T_4) se realiza en la interfase célula-coloides, en la membrana apical de la célula tiroidea, sobre una proteína estructural que

es la tiroglobulina (TG) con la intervención de una enzima microsomal, la tiroperoxidasa (TPO) y en presencia de una fuente de H_2O_2 ⁵ (Fig. 1).

El yoduro ingresa al citoplasma celular a través del transportador Na^+/I^- *Symporter* (NIS) ubicado en la membrana basolateral del tirocito, y un segundo transportador ubicado en la membrana apical y denominado pendrina (PDS), lleva al yoduro hacia la interfase célula/coloides (Fig. 1). El gen del NIS mapea en el cromosoma 19, comprende 15 exones que codifican una proteína de 643 aminoácidos⁶. El gen PDS se localiza en el cromosoma 7q33-31.1, contiene 21 exones que codifican una proteína de 780 aminoácidos^{7,8}.

La TSH controla la función y el crecimiento de la tiroides por regulación de los niveles intracelulares de AMPc por vía de su unión con el TSHr en la superficie celular. El TSHr es una cadena glicoproteica de 744

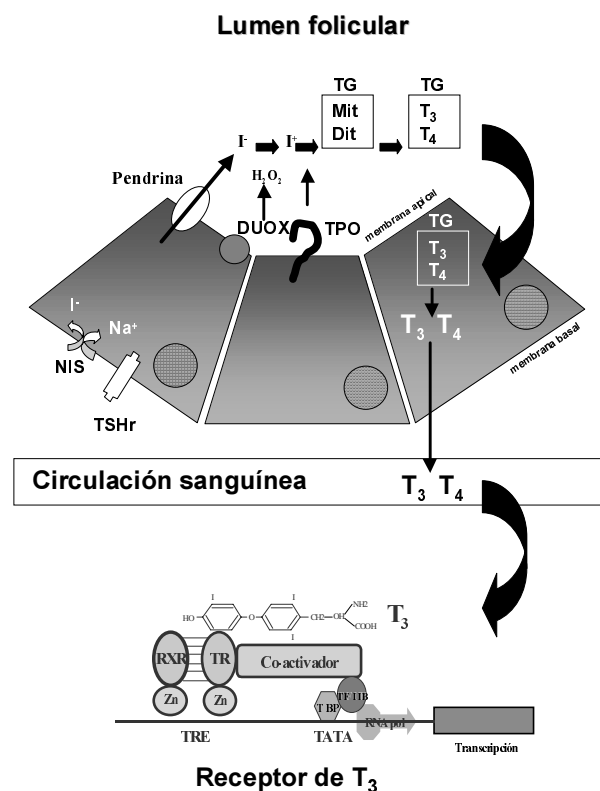


Fig. 1.- Biosíntesis y mecanismo de acción de las hormonas tiroideas.

TG: tiroglobulina, DUOX: Dual oxidasa, TPO: tiroperoxidasa, NIS: Na^+/I^- *Symporter*, TSHr: receptor de TSH, TTF1, TTF2, PAX8: factores de transcripción, MIT: monoyodotirosina, DIT: diyodotirosina, RXR: receptor de ácido retinoico, TR: receptor de hormonas tiroideas, TRE: elemento respondedor al receptor de hormonas tiroideas, TF IIB: factor de transcripción IIB, TBP: proteína de unión a la TATA box, TATA: TATA box, RNA pol: ARN polimerasa.

aminoácidos, ubicado en la membrana basolateral de la célula tiroidea; es un miembro de una superfamilia de receptores acoplados a la proteína G⁹ (Fig. 2). El gen del TSHr se encuentra localizado en el cromosoma 14. Su tamaño es de 188 kilobases, conteniendo 10 exones⁹.

La activación de la cascada adenilciclasa-AMPC por parte de la interacción TSH/TSHr/proteína G desencadena las modificaciones intracelulares que dan lugar a las manifestaciones relacionadas a la acción de la TSH sobre el funcionamiento y el crecimiento tiroideo: estimulación de la captación del yoduro por parte de la célula tiroidea, la biosíntesis y la secreción de las hormonas tiroideas. La proteína G es el intermediario que cumple la función de transducción entre el receptor y la activación de la adenilciclasa y al igual que esta última, se ubica en la membrana basolateral del tirocito.

Tres factores de transcripción cuya expresión está limitada a las células foliculares tiroideas¹⁰ y a algunas otras células, han sido identificados hasta el presente: factor de transcripción 1 (TTF-1, también conocido como TITF1, NKX2-1 o T/EBP)¹¹, factor de transcripción 2 (TTF-2, también conocido como TITF2, FOXE1 o FKHL15)^{12, 13} y PAX8¹⁴. Los factores de transcripción tejido-específicos juegan un importante rol en la organogénesis y en la diferenciación celular. TTF-1, TTF-2 y PAX 8 regulan la expresión de los genes que codifican a las proteínas específicas tiroideas al actuar a nivel de las correspondientes regiones promotoras. El gen del TTF-1 mapea

en el cromosoma 14q13, comprende 2 exones y un ARN mensajero de 2352 nucleótidos¹¹. El gen del TTF-2, por su parte, se localiza en el cromosoma 9q22, contiene un solo exón de 3473 nucleótidos^{12, 13}. El gen de PAX 8 mapea en 2q12-q14 y sus 12 exones transcriben un ARN mensajero de 2707 nucleótidos¹⁴.

La TG es el precursor de las hormonas tiroideas, es una gran glicoproteína homodimérica de 660 kDa. El gen de la TG está ubicado en el brazo largo del cromosoma 8¹⁵, posee 270 kilobases de longitud; la información para la síntesis de un ARN mensajero de 8.5 kilobases está contenida en 48 exones separados por intrones de gran tamaño, que representan el 97.5% de las secuencias del gen¹⁶⁻²³ (Fig. 3). El ARNm de TG es muy heterogéneo debido a 15 polimorfismos nucleotídicos, 10 de los cuales resultan en cambios de aminoácidos, 11 transcritos por splicings alternativos y 4 variantes de sitios de clivaje de poliadenilación^{20, 23}. El monómero está compuesto por un péptido señal de 19 aminoácidos seguido por un polipéptido de 2 749 aminoácidos¹⁶⁻²⁰. El dominio aminoterminal de la proteína está organizada en 19 repetitivos agrupados en 3 dominios diferentes, repetitivos de tipo 1, tipo 2 y tipo 3; la región carboxilo terminal no presenta zonas de repetición interna y tiene características constitutivas diferentes a la región aminoterminal y una marcada homología con la acetilcolinesterasa, lo que sugiere distintos orígenes evolutivos de las dos regiones¹⁶⁻²⁰. Los 11 elementos de tipo 1 se localizan entre las posi-

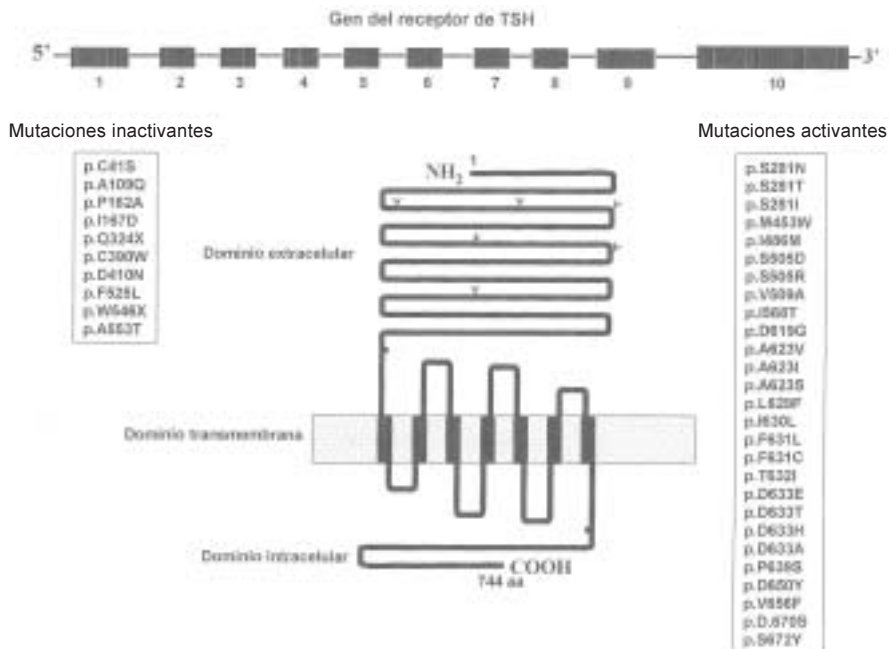


Fig. 2.- Representación esquemática de la organización estructural del gen del receptor de TSH y de su proteína correspondiente. Se indican los dominios funcionales de la proteína y las principales mutaciones activantes e inactivantes identificadas.

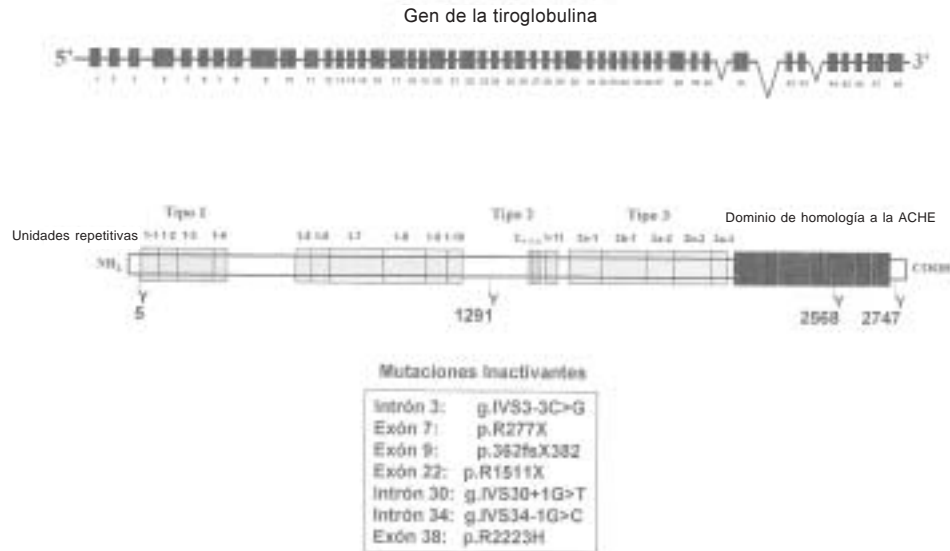


Fig. 3.— Representación esquemática de la organización estructural del gen de la tiroglobulina y de su proteína correspondiente.

Se indican los dominios funcionales de la proteína y las principales mutaciones inactivantes identificadas. Y: tirosina hormonogénica aceptora, ACHE: acetilcolinesterasa.

ciones 12 y 1191 y entre 1492 y 1546. El tipo 2 está compuesto de 3 elementos localizados entre los aminoácidos 1437 y 1484 y el tipo 3 comprende cinco elementos entre los residuos 1584 y 2168. Esta organización proteica repetitiva hace a la TG un ejemplo de evolución génica por eventos de duplicación intragénica y de fusión. Los 11 elementos de tipo 1 regularían la degradación de la TG madura por una selectiva y reversible inhibición de las proteasas lisosomales²⁴. Los sitios hormonogénicos aceptores corresponden a los residuos tirosílicos en posición 5 (exón 2), 1291(exón 18), 2554 (exón 44) y 2747(exón 48)¹⁹. Los tres sitios dadores potenciales fueron identificados en las tirosinas 130, 847 y 1488, correspondiendo a los exones 4, 10 y 21, respectivamente.

Un adecuado mecanismo de control previene una exportación de moléculas prematuras o incompletas, en el cual intervienen las denominadas chaperonas, como calnexina, BIP y GRP94²⁵. Los eventos postraduccionales comprenden ensamblaje de los homodímeros, formación de puentes de disulfuros intracatenarios, glicosilación, incorporación de siálico, fosforilación, sulfatación, iodación y multimerización.

La TG, recientemente sintetizada, se une a un receptor de asialoglicoproteínas (ASPGR, *Apical Membrane Asialoglycoprotein Receptor*) y por medio de éste es transportado a la interfase²⁶. Es posible que este receptor también esté indirectamente involucrado en la endocitosis y en el clivaje proteolítico por unión y secuestro de TGs inmaduras. La región de interacción entre la TG y el re-

ceptor es desconocida. Recientemente un dominio de unión a receptor, denominado dominio de unión a heparina (SRRLKPP), fue determinado en la porción carboxilo terminal de la TG de rata. El candidato como receptor a este dominio es la megalina²⁷. En principio se lo consideró como el receptor-transportador de las moléculas maduras, interviniendo en el proceso de la endocitosis, pero existen fuertes evidencias que la megalina es mediador de la transcitosis, es decir el transporte de TGs maduras de la superficie de la membrana apical a la basal, donde pasarían a la circulación sanguínea. Un segundo dominio de unión a un receptor fue identificado en la estructura de la TG en un principio fue llamado GlcNac; la proteína PDI (*protein disulfide isomerase*), puede ser el posible candidato a receptor²⁸. El PDI se une en la luz del folículo a las moléculas de TGs inmaduras reciclándolas a través del Golgi para su maduración. El dominio de la TG responsable por la unión a la membrana está localizada entre la Ser⁷⁸⁹ y la Met¹¹⁷³.

El gen de la tiroperoxidasa humana se localiza en el cromosoma 2, contiene 17 exones que comprende 3 kilobases y consta de 150 kilobases de ADN²⁹ (Fig. 4). La tiroperoxidasa es una glicoproteína de 933 aminoácidos que cataliza las tres etapas de la organificación del yoduro: oxidación del yoduro, su incorporación a los residuos tirosílicos de la tiroglobulina y finalmente el acoplamiento de las monoyodotirosinas y las diyodotirosinas para formar T₃ y T₄. En todo este proceso se requiere una fuente de H₂O₂. Se identificaron dos enzimas tiroideas relacionadas a la síntesis de H₂O₂, se trata de dos NADPH

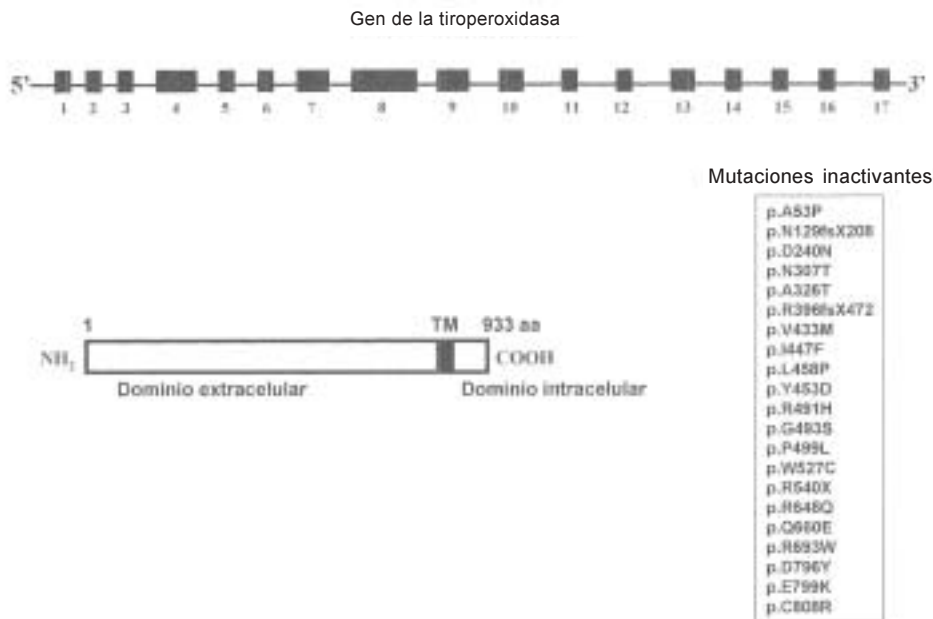


Fig. 4.— Representación esquemática de la organización estructural del gen de la tiroperoxidasa y de su proteína correspondiente. Se indican los dominios funcionales de la proteína y las principales mutaciones inactivantes identificadas. TM: dominio de transmembrana.

oxidadas unidas a la membrana apical denominadas dual oxidasa 1 (DUOX1 o THOX1) y dual oxidasa 2 (DUOX2 o THOX2)^{30, 31}. El gen DUOX2 está localizado en el cromosoma 15q15.3-q21, contiene 21.5 Kb de ADN genómico que incluye 33 exones codificantes. El ARN mensajero es de 6376 nucleótidos y la proteína está compuesta por un péptido señal de 21 aminoácidos seguido por un polipéptido de 1527 aminoácidos. El análisis de la estructura primaria de esta proteína muestra 7 dominios de transmembrana, cuatro motivos de unión a NADPH, un motivo de unión a FAD y dos potenciales motivos de unión a calcio (*calcium EF-hand binding motifs*)^{30, 31}.

El gen DUOX 1 se localiza también en el cromosoma 15 y codifica una proteína de 1551 aminoácidos que presenta una homología del 83% con la DUOX 2³¹.

Bases moleculares del hipotiroidismo congénito

La prevalencia de hipotiroidismo neonatal en general es de 1/4000 (1/2000 a 1/8000)^{5, 32}. Dentro del hipotiroidismo varias entidades poseen características propias, el hipotiroidismo congénito sin bocio (disembriogénesis) debido a agenesias, ectopías o hipoplasias, correspondiendo al 85% de los casos de hipotiroidismo neonatal. Recientemente se identificaron algunos casos donde la causa es una mutación en los genes TTF-1^{33, 34}, TTF-2³⁵

y Pax 8³⁶⁻³⁹. Mutaciones en el receptor de TSH originan resistencia a TSH con hipotiroidismo congénito⁴⁰⁻⁴⁴ o por el contrario hipertiroidismo no autoinmune por un adenoma localizado o por hiperplasia generalizada⁴⁵⁻⁵⁴ (Fig. 2). El hipotiroidismo sin desarrollo de bocio también es producido por mutaciones en el gen de la TSH^{55, 56}.

Un segundo grupo del hipotiroidismo neonatal lo constituyen los hipotiroidismos congénitos con bocio, o bocios congénitos debido a alteraciones de unos de los componentes de la biosíntesis de hormonas tiroideas (dishormonogénesis): TG⁵⁷⁻⁶³, TPO⁶⁴⁻⁷⁹, DUOX2⁸⁰, NIS⁸¹⁻⁸³ y PDS⁸⁴⁻⁸⁵, los cuales producen bajos niveles de hormonas tiroideas y como consecuencia aumento de TSH, y mayor proliferación celular tiroidea. El común denominador de este grupo es el desarrollo del bocio. Este grupo corresponde al 15% de los hipotiroidismos neonatales.

El conocimiento de la organización estructural del gen de la tiroglobulina humana permitió desarrollar las herramientas necesarias para identificar mutaciones que originan bocios congénitos por deficiencia de la TG. Estos estudios permitieron diseñar cebadores intrónicos para amplificar por PCR cada uno de los 48 exones del gen de la TG y en consecuencia estudiar, a partir del ADN genómico, pacientes con defecto de TG. Se identificaron siete diferentes mutaciones asociadas a bocio e hipotiroidismo: g.IVS3-3C>G⁵⁷, p.R277X (exón 7)^{60, 63}, p.362fsX382 (exón 9)⁶², p.R1511X (exón 22)^{58, 63}, g.IVS30+1G>T⁶¹, g.IVS34-1G>C⁶³ y p.R2223H (exón 38)⁶² (Fig. 3).

Uno de estos estudios correspondió a dos hermanos con bocio fetal e hipotiroidismo⁶². El análisis del gen puso en evidencia una nueva delección heterocigota de la citosina 1143 del exón 9, de origen paterno, con cambio del marco de lectura que origina un codón de terminación prematuro, y como consecuencia una proteína teórica de apenas 382 aminoácidos⁶². En el exón 38 se detectó en la posición nucleotídica 6725 la segunda mutación de estos pacientes, que correspondió a un cambio heterocigota adenina → guanina que produce un cambio de arginina a histidina (R2223H)⁶². En una segunda familia se identificaron dos diferentes compuestos heterocigotas (R277X/IVS34-1G>C y R277X/R1511X) en tres individuos afectados con bocio congénito y defecto de síntesis de TG⁶³.

El hipotiroidismo congénito con bocio asociado a defecto de organificación del yoduro se debe a mutaciones identificadas en los genes de TPO o de DUOX2. La primera mutación en el gen de la TPO publicada fue una inserción-duplicación GGCC en la posición 1186 del exón 8 (1186-1187insGGCC)⁶⁴. El cambio de marco de lectura genera un codón de terminación prematuro en el exón 9 (R396fsX472). Varias mutaciones inactivantes fueron luego descritas en el gen de la TPO, tales como: delecciones e inserciones de nucleótidos, cambios de aminoácidos, mutaciones sin sentido y errores de splicing⁶⁵⁻⁷⁹ (Fig. 4). También fueron identificadas y caracterizadas mutaciones inactivantes en el gen DUOX2 (p.R434X, p.Q686X, p.R701X y p.S965fsX994)⁸⁰.

Bases moleculares del hipertiroidismo no autoinmune

El hipertiroidismo es un desorden tiroideo muy común, la mayor parte de los casos se deben a mecanismos autoinmunes, constituyendo la enfermedad de Graves, donde los autoanticuerpos activan la cascada adenilciclase - AMPc a través del receptor de TSH, desarrollando un bocio difuso con signos y síntomas de hipertiroidismo.

Un segundo grupo de hipertiroidismo se debe a mutaciones en el receptor de TSH, que activan en forma autónoma la cascada adenilciclase - AMPc por virtual desacople de la proteína G originando fenotipos con ganancia de función⁴⁵⁻⁵⁴. Esos fenotipos pueden ser de dos tipos: adenoma tiroideo tóxico (nódulo caliente) por mutaciones somáticas^{45, 46, 48, 49, 54} y la hiperplasia tiroidea tóxica^{47, 48, 50, 53}, donde toda la tiroides está comprometida por mutaciones germinales esporádicas (*de novo*) o familiares.

El adenoma tiroideo se debe a una hiperactividad nodular autónoma a la estimulación de la TSH; es una neoplasia homogénea y encapsulada, caracterizada por un nódulo tiroideo bien definido que aparece en el

centellograma como un área caliente rodeada por una zona fría hipocaptante. La expresión clínica varía según el tamaño. La mayor parte de las mutaciones se localizan en la mitad carboxilo-terminal del receptor de TSH, a lo largo del exón 10 correspondiente al primer y segundo "loop" extracelular, al tercer "loop" intracelular y en el sexto segmento de transmembrana⁴⁵⁻⁵⁴. Las mutaciones identificadas corresponden a sustitución de aminoácidos por mutaciones puntuales. Las mutaciones que afectan el dominio extracelular amino terminal son también capaces de activar la autonomía de la célula tiroidea.

Los pacientes con hiperplasia tiroidea tóxica no autoinmune presentan un bocio difuso homogéneo inicial o multinodular en etapas posteriores, de variable tamaño y signos y síntomas de hipertiroidismo congénito que varía de subclínico a grave sin estigmas de autoinmunidad. Es una enfermedad autosómica dominante.

Bases moleculares de la resistencia a hormonas tiroideas

La resistencia a hormonas tiroideas (RTH) es otra entidad con gran interés fisiopatológico y molecular; se caracteriza por una disminución de la respuesta a las hormonas tiroideas por parte de los tejidos. La incidencia de RTH es de 1 caso cada 50 000 nacidos vivos, con más de 600 casos conocidos⁸⁶⁻⁸⁸. El síndrome es definido por una elevación de las hormonas tiroideas libres y un nivel normal o elevado pero inapropiado de TSH. El cuadro clínico es muy variable e incluye bocio, signos de hipertiroidismo e hipotiroidismo, baja estatura, deficiencia en la maduración ósea e hiperactividad con déficit de atención⁸⁸.

El receptor de hormonas tiroideas pertenece a una super familia de proteínas, la familia c-erbA⁸⁹. Estos receptores se caracterizan por poseer dos dominios bien diferenciados, un dominio para la unión con el ADN llamado DBD (dominio de unión al ADN) y un dominio para la unión a la T₃ denominado LBD (dominio de unión al ligando)⁸⁸ (Fig. 5). El receptor de hormonas tiroideas luego de su unión a T₃, se une con secuencias específicas del ADN llamados TRE (elementos respondedores a las hormonas tiroideas) usualmente localizados cerca del sitio de inicio de la transcripción de los genes regulados por la hormona (Fig. 1). El receptor forma un heterodímero con el receptor de ácido retinoico (RXR) y a su vez el complejo se une al TRE. Las proteínas coactivadoras pueden mediar los efectos transcripcionales del receptor, al actuar sobre el complejo de iniciación de la transcripción formado por el TFIIB (factor de transcripción IIB), el TBP (proteína de unión a la TATA box) y la ARN polimerasa, asociados al promotor TATA box (Fig. 1). La activación ocurre por la unión de la T₃ al dominio LBD, produciendo finalmente la modulación de la trans-

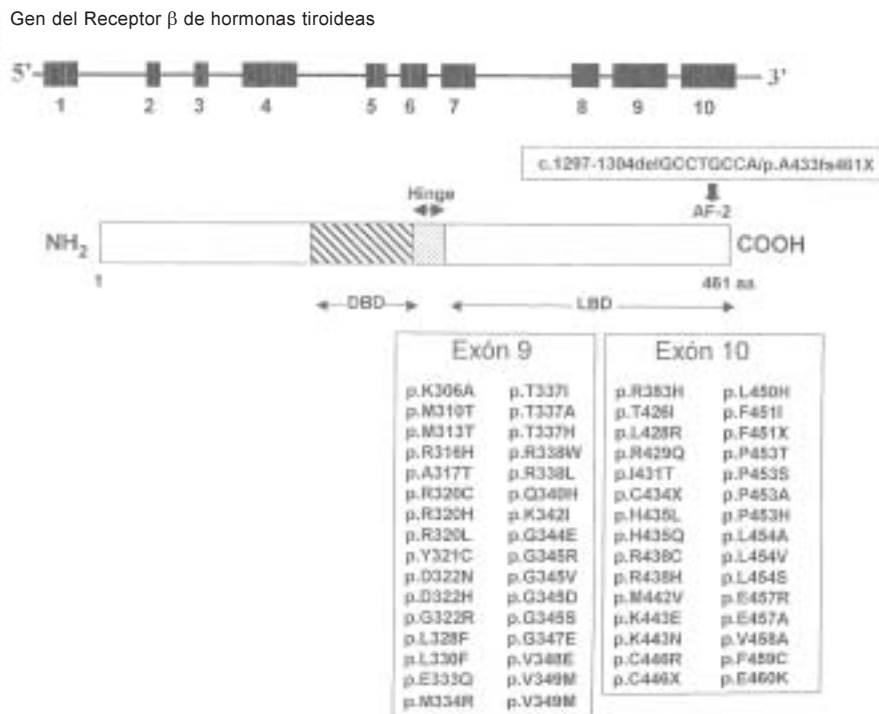


Fig. 5.— Representación esquemática de la organización estructural del gen del receptor β de hormonas tiroideas y de su proteína correspondiente. Se indican los dominios funcionales de la proteína y las principales mutaciones inactivantes identificadas en los exones 9, 10 y en la región AF-2. DBD: dominio de unión al ADN, LBD: dominio de unión al ligando, AF-2: función de activación 2.

cripción del gen efector. La acción final puede ser de activación o represión de la transcripción. Se identificaron correpresores (NcoR y SMRT) y coactivadores (SRC-1, TIF2, RIP 140, p/CIP y RAC3/ACTR/TRAM-1/AIB1) celulares, el área de activación reside en la región carboxilo terminal del dominio LBD, conocido como AF-2 (función de activación 2)⁸⁸. Existen dos genes que codifican a los receptores de hormonas tiroideas, el gen TR α (receptor de hormonas tiroideas α) que mapea en el cromosoma 17 y el gen TR β (receptor de hormonas tiroideas β) en el cromosoma 3, cada uno de estos genes originan varias isoformas del receptor⁸⁶⁻⁸⁹. La RTH está asociada a mutaciones en el gen TR β en forma autosómica dominante, por el contrario ninguna mutación pudo ser identificada en el gen TR α . El gen TR β comprende 370 kilobases, las secuencias codificantes están repartidas en 10 exones y genera dos ARNm diferentes, los receptores TR β 1 y TR β 2. Los mensajeros presentan una compleja estructura. El ARNm del TR β 1 tiene 1698 nucleótidos, está integrado por los 10 exones del gen y codifica una proteína de 461 aminoácidos⁸⁶⁻⁸⁹. Las mutaciones más frecuentes originan sustitución de un aminoácido⁹⁰⁻¹⁰⁵ (Fig. 5). Se ha publicado una familia con

delección completa de la secuencia codificante del gen TR β ⁸⁶. La mayoría de las mutaciones se localizan en el dominio LBD⁹⁰⁻¹⁰⁶. Una observación reciente muestra un caso de RTH asociada a una delección de 8 bases en el exón 10 (1297-1304delGCCTGCCA)¹⁰⁶.

En conclusión, el hipotiroidismo congénito, con o sin socio, el hipertiroidismo no autoinmune por adenoma o hiperplasia y la resistencia a hormonas tiroideas son ejemplos de enfermedades genéticas donde el componente molecular y sus respectivas mutaciones fueron identificados en la última década. La tiroides constituye un modelo ideal para estudios genéticos moleculares básicos porque en la misma se combinan genes del más variado origen que expresan proteínas de la más variada naturaleza, lo cual permite extrapolar los hallazgos a otros campos de la genética. La obtención de nuevas herramientas diagnósticas permitirán la detección de portadores de mutaciones en los genes específicos, los cuales resultan asintomáticos para los estudios clínicos o bioquímicos clásicos de estas enfermedades, y de esta manera establecer medidas preventivas que puedan disminuir el desarrollo de la enfermedad, o con un asesoramiento genético adecuado, su expansión.

Agradecimientos: C.M. Rivolta y H.M. Targovnik son miembros de la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET).

C.M. Moya es Becario Doctoral de la Universidad de Buenos Aires. S.A. Esperante es Becario Doctoral de la ANPCyT-FONCyT. El presente trabajo de revisión fue realizado por los aportes de los siguientes subsidios: Universidad de Buenos Aires (B 057/2004) y ANPCyT-FONCyT (05-08838/ PICT 2000/ 2001).

Bibliografía

- Pendred V. Deaf mutism and goiter. *Lancet* 1896; 2:532.
- Osler W. Sporadic cretinism in America. *Trans Congress Am Physicians Surg* 1897; 4: 169-206.
- Stanbury J, Chapman E. Congenital hypothyroidism with goiter: absence of an iodide-concentrating mechanism. *Lancet* 1960; 1: 1162-5.
- Stanbury J, Hedge A. A study of a family of goitrous cretins. *J Clin Endocrinol Metab* 1950; 10: 1471-5.
- Medeiros-Neto G, Knobel M, DeGroot LJ. Genetic disorders of the thyroid hormone system. In: Baxter JD, (eds). *Genetics in Endocrinology*. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 2002, p 375-402.
- Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature* 1996; 379: 458-60.
- Coyle B, Coffey R, Armour JAL, et al. Pendred syndrome (goitre and sensorineural hearing loss) maps to chromosome 7 in the region containing the nonsyndromic deafness gene DFNB4. *Nat Genet* 1996; 12: 421-6.
- Sheffield VC, Kraiem Z, Beck JC et al. Pendred syndrome maps to chromosome 7q21-34 and is caused by an intrinsic defect in thyroid iodine organification. *Nat Genet* 1996; 12: 424-6.
- Parmentier M, Libert F, Maenhaut C, et al. Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science* 1989; 246: 1620-2.
- Damonte G, Di Lauro R. Thyroid-specific gene expression. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1218: 255-66.
- Hamdan H, Liu H, Li C, et al. Structure of the human NKX2.1 gene. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1396: 336-48.
- Chadwick BP, Obermayr F, Frischauf AM. FKHL15, a new human member of the forkhead gene family located on chromosome 9q22. *Genomics* 1997; 41: 390-6.
- Zannini M, Avantaggiato V, Biffali E, et al. TTF-2, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation. *EMBO J* 1997; 16: 3185-97.
- Poleev A, Fickenscher H, Mundlos S, et al. PAX 8, a human paired box gene: isolation and expression in the developing thyroid, kidney and Wilms' tumors. *Development* 1992; 116: 611-23.
- Rabin M, Barker P E, Ruddle F H, Brocas H, Targovnik H, Vassart G. Proximity of thyroglobulin and c-myc genes on human chromosome 8. *Somatic Cell Mol Genet* 1985; 11: 397-402.
- Targovnik HM, Pohl V, Christophe D, Cabrer B, Brocas H, Vassart G. Structural organization of the 5' region of the human thyroglobulin gene. *Eur J Biochem* 1984; 141: 271-7.
- Mendive FM, Rivolta CM, Vassart G, Targovnik HM. Genomic organization of the 3' region of the human thyroglobulin gene. *Thyroid* 1999; 9: 903-12.
- Moya CM, Mendive FM, Rivolta CM, Vassart G, Targovnik HM. Genomic organization of the 5' region of the human thyroglobulin gene. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 789-98.
- Mendive FM, Rivolta CM, Moya CM, Vassart G, Targovnik HM. Genomic organization of the human thyroglobulin gene. The complete intron-exon structure. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 485-96.
- van de Graaf SAR, Ris-Stalpers C, Pauws E, Mendive FM, Targovnik HM, de Vijlder JJM. Up to date with human thyroglobulin. *J Endocrinol* 2001; 170: 307-21.
- Moya CM, Varela V, Rivolta CM, Mendive FM, Targovnik HM. Identification and characterization of a novel large insertion/deletion polymorphism of 1464 base pair in the human thyroglobulin gene. *Thyroid* 2003; 13: 319-23.
- Rivolta CM, Moya CM, Mendive FM, Targovnik HM. Genotyping and characterization of two polymorphic microsatellite markers located within introns 29 and 30 of the human thyroglobulin gene. *Thyroid* 2002; 12: 773-9.
- Mendive FM, Rossetti LC, Vassart G, Targovnik HM. Identification of a new thyroglobulin variant: A guanine-to-adenine transition resulting in the substitution of arginine 2510 by glutamine. *Thyroid* 1997; 7: 587-91.
- Molina F, Pau B, Granier C. The type-1 repeats of thyroglobulin regulate thyroglobulin degradation and T3, T4 release in thyrocytes. *FEBS Letters* 1996; 391: 229-31.
- Medeiros-Neto G, Kim PS, Yoo SE et al. Congenital hypothyroid goiter with deficient thyroglobulin. Identification of an endoplasmic reticulum storage disease with induction of molecular chaperones. *J Clin Invest* 1996; 98: 2838-44.
- Ulianich L, Suzuki K, Mori A, et al. Follicular thyroglobulin (TG) suppression of thyroid-restricted genes involves the apical membrane asialoglycoprotein receptor and TG phosphorylation. *J Biol Chem* 1999; 274: 25099-107.
- Marino M, Zheng G, Chiovato L, et al. Role of megalin (gp330) in transcytosis of thyroglobulin by thyroid cells. A novel function in the control of thyroid hormone release. *J Biol Chem* 2000; 275: 7125-37.
- Metzghrani A, Courageot J, Mani JC, Pugniere M, Bastiani P, Miquelis R. Protein-disulfide isomerase (PDI) in FRTL5 cells. PH-dependent thyroglobulin/PDI interactions determine a novel PDI function in the post-endoplasmic reticulum of thyrocytes. *J Biol Chem* 2000; 275: 1920-9.
- Kimura S, Hong Y-S, Kotani T, Othaki S, Kikkawa F. Structure of the human thyroid peroxidase gene: comparison and relationship to the human myeloperoxidase gene. *Biochemistry* 1989; 28: 4481-9.
- De Deken X, Wang D, Many MC, et al. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J Biol Chem* 2000; 275: 23227-33.
- Morand S, Agnandji D, Noel-Hudson MS, et al. Targeting of the dual oxidase 2 N-terminal region to the plasma membrane. *J Biol Chem* 2004; 279: 30244-51.
- Kopp P. Perspective: genetic defects in the etiology of congenital hypothyroidism. *Endocrinology* 2002; 143: 2019-24.
- Pohlenz J, Dumitrescu A, Zundel D, et al. Partial deficiency of thyroid transcription factor 1 produces predominantly neurological defects in humans and mice. *J Clin Invest* 2002; 109: 469-73.
- Krude H, Schütz B, Biebermann H, et al. Choreoathetosis, hypothyroidism, and pulmonary alterations due to human NKX2-1 haploinsufficiency. *J Clin Invest* 2002; 109: 475-80.
- Clifton-Bligh R J, Wentworth J M, Heinz P, et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. *Nat Genet* 1998; 19: 399-401.
- Macchia PE, Lapi P, Krude H, et al. PAX8 mutations

- associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet* 1998; 19: 83-6.
37. Vilain C, Rydlewski C, Duprez L, et al. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 234-8.
 38. Congdon T, Nguyen LQ, Nogueira CR, Habiby RL, Medeiros-Neto G, Kopp P. A novel mutation (Q40P) in PAX8 associated with congenital hypothyroidism and thyroid hypoplasia: Evidence for phenotypic variability in mother and child. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3962-7.
 39. Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, et al. Characterization of a novel loss of function mutation of PAX8 in a familial case of congenital hypothyroidism with in-place, normalized thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4285-91.
 40. Sunthornthepvarakul T, Gottschalk M E, Hayashi Y, Refetoff S. Resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 332: 155-160.
 41. Tonacchera M, Van Sande J, Parma J, et al. TSH receptor and disease. *Clin Endocrinol* 1996; 44: 621-33.
 42. Refetoff S. Clinical features and molecular basis of thyrotrophin resistance. *Topical Endocrinol* 1996; 4: 9-12.
 43. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest* 1997; 99: 3018-24.
 44. Tonacchera M, Agretti P, Pinchera A, et al. Congenital hypothyroidism with impaired thyroid response to thyrotropin (TSH) and absent circulating thyroglobulin: evidence for a new inactivating mutation of the TSH receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1001-8.
 45. Parma J, Duprez L, Van Sande J, et al. Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas. *Nature* 1993; 365: 649-51.
 46. Paschke R, Tonacchera M, Van Sande J, Parma J, Vassart G. Identification and functional characterization of two new somatic mutations causing constitutive activation of the thyrotropin receptor in hyperfunctioning autonomous adenomas of the thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1785-9.
 47. Duprez L, Parma J, Van Sande J, et al. Germline mutations in the thyrotropin receptor gene cause non autoimmune autosomal dominant hyperthyroidism. *Nat Genet* 1994; 7: 396-401.
 48. Van Sande J, Parma J, Tonacchera M, Swillens S, Dumont J, Vassart G. Somatic and germline mutations of the TSH receptor gene in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2577-85.
 49. Parma J, Van Sande J, Swillens S, Tonacchera M, Dumont J, Vassart G. Somatic mutations causing constitutive activity of the thyrotropin receptor are the major cause of hyperfunctioning thyroid adenomas: identification of additional mutations activating both the cyclic adenosine 3', 5'- monophosphate and inositol phosphate - Ca²⁺ cascades. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 725-33.
 50. Kopp P, Van Sande J, Parma J, et al. Congenital hyperthyroidism caused by a mutation in the thyrotropin receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 332: 150-4.
 51. Leclere J F, Vassart G. Hyperthyroidism due to mutations that constitutively activate thyrotrophin receptors. *Topical Endocrinol* 1996; 4: 5-8.
 52. Vassart G, Van Sande J, Parma J, et al. Activating mutations of the TSH receptor gene cause thyroid diseases. *An Endocrinol (Paris)* 1996; 57: 50-4.
 53. Tonacchera M, Van Sande J, Cetani F, et al. Functional characteristics of three new germline mutations of the thyrotropin receptor gene causing autosomal dominant toxic thyroid hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 547-54.
 54. Duprez L, Hermans J, Van Sande J, Dumont JE, Vassart G, Parma J. Two autonomous nodules of a patient with multinodular goiter harbor different activating mutations of the thyrotropin receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 306-8.
 55. Pohlenz J, Dumitrescu A, Aumann U, et al. Congenital secondary hypothyroidism caused by exon skipping due to a homozygous donor splice site mutation in the TSH β -subunit gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 336-9.
 56. Borck G, Topaloglu AK, Korsch E, et al. Four cases of congenital secondary hypothyroidism due to a splice site mutation in the thyrotropin-b gene: Phenotypic Variability and founder effect. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4136-41.
 57. Ieiri T, Cochaux P, Targovnik HM, et al. A 3' splice site mutation in the thyroglobulin gene responsible for congenital goiter with hypothyroidism. *J Clin Invest* 1991; 88: 1901-5.
 58. Targovnik HM, Medeiros-Neto G, Varela V, Cochaux P, Wajchenberg BL, Vassart G. A nonsense mutation causes human hereditary congenital goiter with preferential production of a 171-nucleotide-deleted thyroglobulin ribonucleic acid messenger. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 210-5.
 59. Medeiros-Neto G, Targovnik HM, Vassart G. Defective thyroglobulin synthesis and secretion causing goiter and hypothyroidism. *Endocr Rev* 1993; 14: 165-83.
 60. van de Graaf SAR, Ris-Stalpers C, Veenboer GJM, et al. A premature stopcodon in thyroglobulin mRNA results in familial goiter and moderate hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2537-42.
 61. Targovnik HM, Rivolta CM, Mendive FM, Moya CM, Medeiros - Neto G. Congenital goiter with hypothyroidism caused by a 5' Splice Site mutation in the thyroglobulin gene. *Thyroid* 2001; 11: 685-90.
 62. Caron P, Moya CM, Malet D, et al. Compound heterozygous mutations in the thyroglobulin gene (1143delC and 6725G→A[R2223H]) resulting in fetal goitrous hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3546-53.
 63. Gutnisky VJ, Moya CM, Rivolta CM, et al. Two distinct compound heterozygous constellation (R277X / IVS34-1G>C and R277X / R1511X) in the thyroglobulin (TG) gene in affected individuals of a brazilian kindred with congenital goiter and defective TG synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 646-57.
 64. Abramowicz MJ, Targovnik HM, Varela V, et al. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J Clin Invest* 1992; 90: 1200-4.
 65. Medeiros-Neto GA, Billerbeck AEC, Wajchenberg BL, Targovnik HM. Defective organization of iodide causing hereditary goitrous-hypothyroidism. *Thyroid* 1993; 3: 143-159.
 66. Bikker H, den Hartog MT, Baas F, Gons MH, Vulsma T, de Vijlder JJM. A 20 basepair duplication in the human thyroid peroxidase gene results in a total iodide organization defect and congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 248-52.
 67. Bikker H, Vulsma T, Baas F, de Vijlder JJM. Identification of five novel inactivating mutations in the human thyroid peroxidase gene by denaturing gradient gel electrophoresis. *Hum Mutat* 1995; 6: 9-16.
 68. Bikker H, Waelkens JJJ, Bravenboer B, de Vijlder JJM. Congenital hypothyroidism caused by a premature termi-

- nation signal in exon 10 of the human thyroid peroxidase gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2076-9.
69. Kotani T, Urneki K, Yamamoto I, Maesaka H, Tachibana K, Ohtaki S. A novel mutation in the human thyroid peroxidase gene resulting in a total iodide organification defect. *J Endocrinol* 1999; 160: 267-73.
 70. Pannain S, Weiss RE, Jackson CE, et al. Two different mutations in the thyroid peroxidase gene of a large inbred Amish kindred: power and limits of homozygosity mapping. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1061-71.
 71. Santos CLS, Bikker H, Rego KGM, et al. A novel mutation in the TPO gene in goitrous hypothyroid patients with iodide organification defect. *Clin Endocrinol* 1999; 51: 165-172.
 72. Bakker B, Bikker H, Vulsma T, de Randamie JSE, Wiedijk BM, de Vijlder JJM. Two decades of screening for congenital hypothyroidism in the Netherlands: TPO gene mutations in total iodide organification defect (an update). *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3708-12.
 73. Ambrugger P, Stoeva I, Biebermann H, Torresani T, Leitner C, Grüters A. Novel mutations of the thyroid peroxidase gene in patients with permanent congenital hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 19-24.
 74. Bakker B, Bikker H, Hennekam RCM, et al. Maternal isodisomy for chromosome 2p causing severe congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1164-8.
 75. Kotani T, Umeki K, Yamamoto I, Ohtaki S, Adachi M, Tachibana K. Iodide organification defects resulting from cosegregation of mutated and null thyroid peroxidase alleles. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 182: 61-8.
 76. Niu DM, Hwang B, Chu YK, Liao CJ, Wang PL, Lin CY. High prevalence of a novel mutation (2268 insT) of the thyroid peroxidase gene in Taiwanese patients with total iodide organification defect, and evidence for a founder effect. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4208-12.
 77. Umeki K, Kotani T, Kawano JI, et al. Two novel missense mutations in the thyroid peroxidase gene: R665W and G771R result in a localization defect and cause congenital hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 491-8.
 78. Wu JY, Shu SG, Yang CF, Lee CC, Tsai FJ. Mutation analysis of thyroid peroxidase gene Chinese patients with total iodide organification defect: identification of five novel mutations. *J Endocrinol* 2002; 172: 627-35.
 79. Rivolta CM, Esperante SA, Gruñeiro-Papendick L, et al. Five novel inactivating mutations in the human thyroid peroxidase gene responsible for congenital goiter and iodide organification defect. *Human Mutation* 2003; 22: 259.
 80. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJE, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med* 2002; 347: 95-102.
 81. Miiki K, Harada T, Miyai K, Takai SI, Amino N. Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na⁺/I⁻ symporter. *Nat Genet* 1997; 16: 124-5.
 82. Pohlenz J, Medeiros-Neto G, Gross J L, Silveiro S P, Knobel M, Refetoff S. Hypothyroidism in a Brazilian kindred due to iodide trapping defect caused by homozygous mutation in the sodium/iodide symporter gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240: 488-91.
 83. Pohlenz J, Rosenthal IM, Weiss RE, Jhiang SM, Burant C, Refetoff S. Congenital hypothyroidism due to mutations in the sodium/iodide symporter. Identification of a nonsense mutation producing a downstream cryptic 3' splice site. *J Clin Invest* 1998; 101: 1028-35.
 84. Kopp P. Pendred syndrome and genetic defects in thyroid hormone synthesis. *Reviews Endocr Metab Dis* 2000; 1: 109-121.
 85. Borck G, Roth C, Martiné U, Wildhardt G, Pohlenz J. Mutations in the PDS gene in German families with Pendred's syndrome: V138F is a founder mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2916-21.
 86. Refetoff S, Weiss RE, Usala SJ. The syndromes of resistance to thyroid hormone. *Endocr Rev* 1993; 14: 348-99.
 87. Kopp P, Kitajima K, Jameson JL. Syndrome of resistance to thyroid hormone: insights into thyroid hormone action. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996; 211:49-61.
 88. Weiss R E, Refetoff S. Resistance to thyroid hormone. *Rev Endocr Metab Disord Jan* 2000; 1: 97-108.
 89. Sakurai A, Nakai A, DeGroot LJ. Structural analysis of human thyroid receptor β gene. *Mol Cell Endocrinol* 1990; 71: 83-91.
 90. Weiss RE, Stein MA, Duck SC, et al. Low intelligence but not attention deficit hyperactivity disorder is associated with resistance to thyroid hormone caused by mutation R316H in the thyroid hormone receptor β gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1525-8.
 91. Refetoff S, Weiss RE, Wing JR, Sarne D, Chyna B, Hayashi Y. Resistance to thyroid hormone in subjects from two unrelated families is associated with a point mutation in the thyroid hormone receptor β gene resulting in the replacement of the normal proline 453 with serine. *Thyroid* 1994; 4: 249-54.
 92. Weiss R E, Chyna B, Duell PB, Hayashi Y, Sunthornthepvarakul T, Refetoff S. A new point mutation (C446R) in the thyroid hormone receptor-beta gene of a family with resistance to thyroid hormone. *J Clin Endocr Metab* 1994; 78: 1253-6.
 93. Brucker-Davis F, Skarulis MC, Grace MB, et al. Genetic and clinical features of 42 kindred with resistance to thyroid hormone. *Ann Int Med* 1995; 123: 572-83.
 94. Weiss RE, Tunca H, Gerstein H C, Refetoff S. A new mutation in the thyroid hormone receptor (TR) beta gene (V458A) in a family with resistance to thyroid hormone (RTH). *Thyroid* 1996; 6: 311-2.
 95. Pohlenz J, Schönberger W, Wemme H, Winterpacht A, Wirth S, Zabel B. New point mutation (R243W) in the hormone binding domain of the c-erbA β -1 gene in a family with generalized resistance to thyroid hormone. *Hum Mutat* 1996; 7: 79-81.
 96. Yagi H, Pohlenz J, Hayashi Y, Sakurai A, Refetoff S. Resistance to thyroid hormone caused by two mutant thyroid hormone receptor β , R243Q and R243W, with marked impairment of function that cannot be explained by altered in-vitro 3,5,3'-triiodothyronine binding affinity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1608-14.
 97. Di Fulvio M, Chiesa A, Baranzini S, Gruñeiro-Papendick L, Masini-Repiso A, Targovnik H. A new point mutation (M313T) in the thyroid hormone receptor β gene in a patient with resistance to thyroid hormone. *Thyroid* 1997; 7: 43-4.
 98. Nagashima T, Yagi H, Nagashima K, et al. A novel point mutation of thyroid hormone receptor β gene in a family with resistance to thyroid hormone. *Thyroid* 1997; 7: 771-3.
 99. Clifton-Bligh RJ, de Zegher F, Wagner RL, et al. A novel TR β mutation (R383H) in resistance to thyroid hormone syndrome predominantly impairs corepressor release and negative transcriptional regulation. *Mol Endocrinol* 1998; 12: 609-21.
 100. Menzaghi C, Balsamo A, Di Paola R, et al. Association between an R338L mutation in the thyroid hormone receptor- β gene and thyrotoxic features in two unrelated kindreds with resistance to thyroid hormone. *Thyroid* 1999; 9: 1-6.
 101. Sarkissian G, Dace A, Mesmacque A, et al. A novel resistance to thyroid hormone associated with a new mutation (T329N) in the thyroid hormone receptor β gene. *Thyroid* 1999; 9: 165-171.

102. Furlanetto TW, Kopp P, Peccin S, Gu WX, Jameson JL. A novel mutation (M310L) in the thyroid hormone receptor β causing resistance to thyroid hormone in a brazilian kindred and a neonate. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 520-6.
103. Phillips SA, Rotman-Pikielny P, Lazar J, et al. Extreme thyroid hormone resistance in a patient with a novel truncated TR mutant. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5142-7.
104. Rivolta CM, Feijoo MC, Targovnik HM, Funes A. Identificación de una transversión heterocigota 1357C>A (P453T) en el exón 10 del gen del receptor de hormonas tiroideas β en una familia con resistencia a hormonas tiroideas. *Rev Argent Endocrinol Metab* 2003; 40: 13-22.
105. Rivolta CM, Herzovich V, Esperante SA, Lazzati JM, Iorcansky S, Targovnik H M. Identificación de una transición heterocigota 1012C>T (R338W) en el exón 9 del gen del receptor β de hormonas tiroideas en una familia con resistencia generalizada a hormonas tiroideas. *Rev Argent Endocrinol Metab* 2003; 40: 165-71.
106. Rivolta CM, Mallea Gil MS, Ballarino C, et al. A novel 1297-1304delGCCTGCCA mutation in the exon 10 of the thyroid hormone receptor β gene causes resistance to thyroid hormone. *Mol Diagn* 2004; 8: 163-9.

Hai ya un establecimiento en Washington, i que atrae las miradas de toda la nacion, el cual es visitado diariamente como escuela nacional. La Oficina de Patentes encierra en un museo de modelos la historia de los progresos que las artes industriales han hecho desde su creacion. Trece mil quinientas veinte i tres patentes por invenciones i mejoras se habian otorgado hasta 1844, perteneciendo al año de 1843 quinientas treinta i una. En este ramo de la actividad inteligente del pais han procedido, como debieran proceder en todo lo que tiene relacion con la cultura, a saber: importando primero, plajando, saqueando a las otras naciones para enriquecer de datos su espíritu, i obrar despues. Los resultados no se han hecho aguardar. [. . .]

Domingo Faustino Sarmiento (1811-1888)

Viaje por Europa, Africa y América 1845-1847 y Diario de gastos (1849-51). Edición Crítica (de la versión 1886). Coordinador: Javier Fernández. Buenos Aires: ALLCA XX - Fondo de Cultura Económica, 1993. p 113

Nota: Ortografía original y particular del autor conservada.